# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/005170

International filing date: 22 March 2005 (22.03.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP

Number: 2004-315631

Filing date: 29 October 2004 (29.10.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 28 April 2005 (28.04.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in

compliance with Rule 17.1(a) or (b)



# 日 本 国 特 許 庁 JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

2004年10月29日 Date of Application:

願 番 号

特願2004-315631 Application Number:

パリ条約による外国への出願 に用いる優先権の主張の基礎 となる出願の国コードと出願 番号

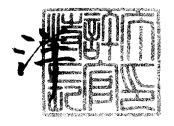
The country code and number of your priority application, to be used for filing abroad under the Paris Convention, is JP2004-315631

出 願 人

チッソ株式会社 Applicant(s): 藤森工業株式会社

> 2005年 4月13日

特許庁長官 Commissioner, Japan Patent Office



```
【書類名】
              特許願
【整理番号】
              P-C41191
【あて先】
              特許庁長官
                       殿
【国際特許分類】
              C 0 7 K 1 4 / 7 4 5
【発明者】
  【住所又は居所】
              東京都中央区日本橋馬喰町一丁目4番16号 藤森工業株式会社
              本社内
              細川 和也
  【氏名】
【発明者】
  【住所又は居所】
              東京都中央区日本橋馬喰町一丁目4番16号 藤森工業株式会社
              本社内
  【氏名】
              鹿島 甲介
【特許出願人】
  【識別番号】
              0 0 0 0 0 0 2 0 7 1
  【氏名又は名称】
              チッソ株式会社
【特許出願人】
  【識別番号】
              0 0 0 2 2 4 1 0 1
  【氏名又は名称】
              藤森工業株式会社
【代理人】
  【識別番号】
              100100549
  【弁理士】
  【氏名又は名称】
              川口 嘉之
  【電話番号】
              03-3669-6571
  【連絡先】
              担当
【選任した代理人】
  【識別番号】
              100090516
  【弁理士】
  【氏名又は名称】
              松倉
                  秀実
【選任した代理人】
  【識別番号】
              100089244
  【弁理士】
  【氏名又は名称】
              遠山 勉
【先の出願に基づく優先権主張】
  【出願番号】
              特願2004-80950
  【出願日】
              平成16年 3月19日
【先の出願に基づく優先権主張】
  【出願番号】
              特願2004-170346
  【出願日】
              平成16年 6月 8日
【先の出願に基づく優先権主張】
  【出願番号】
              特願2004-217834
  【出願日】
              平成16年 7月26日
【手数料の表示】
  【予納台帳番号】
              192372
  【納付金額】
              16,000円
【提出物件の目録】
  【物件名】
              特許請求の範囲
  【物件名】
              明細書
  【物件名】
              図面 1
  【物件名】
              要約書
```

9712150

【包括委任状番号】

## 【書類名】特許請求の範囲

## 【請求項1】

野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下であるトロンビン誘導体。

# 【請求項2】

トロンビン基質結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上である請求項1に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項3】

ヒルジンC末端ペプチド結合能を有する請求項1に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項4】

トロンビンレセプター結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上である請求項1に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項5】

ヘバリン結合能が野生型トロンビンと同程度である請求項 1 ~ 4 の何れか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項6】

0.1 MoNaClを含む pH7.4の50 mMトリス塩酸中でトロンビン基質と $37 \text{ } \mathbb{C}$  で 3 時間反応させたときに分解されるトロンビン基質の割合が10%以下である請求項 1 ~ 5 の何れか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項7】

トロンビン基質が血液凝固第13因子である請求項6に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項8】

トロンビン基質がトロンビンレセプター細胞外ドメインのペプチドである請求項6に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項9】

トロンビン基質がフィブリノゲンである請求項6に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項10】

0.1 MのNaClを含むpH7.4の50mMトリス塩酸に溶解した1mg/mlフィブリノゲン溶液に、終濃度が0.1mg/mlになるように加えて、37C、3時間インキュベーションしたときにフィブリンクロットを形成させない請求項 $1\sim6$ の何れか一項に記載のトロンビン誘導体。

# 【請求項11】

トロンボモジュリンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下である請求項1~10のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項12】

抗血液凝固カスケード効果もしくは抗血小板効果、またはその両方を有し、さらにトロンボモジュリンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下である請求項1~10のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項13】

フィブリノゲンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下である請求項1~10のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項 1 4】

抗血液凝固カスケード効果もしくは抗血小板効果、またはその両方を有し、さらにフィブリノゲンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下である請求項1~10のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項15】

トロンビンレセプター又は血液凝固第8因子への結合能がトロンボモジュリンへの結合能に比較し相対的に2倍以上に高まった請求項1~10のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項16】

トロンビンレセプターまたは血液凝固第8因子への結合能がフィブリノゲンへの結合能に比較して相対的に2倍以上に高まった請求項1~10のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項17】

野生型トロンビンがヒト野生型トロンビンである、請求項1~16のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項18】

ヒト野生型トロンビンが配列番号2のアミノ酸配列を含む蛋白質である請求項17に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項19】

カルボキシル基が修飾された請求項1~18のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項20】

アミノ酸のエステルによってカルボキシル基が修飾された請求項 1 9 記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項21】

ポリエチレングリコールによってカルボキシル基が修飾された請求項1

9記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項22】

アミノ基を有するポリエチレングリコールによってカルボキシル基が修飾された請求項1 9記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項23】

前記ポリエチレングリコールが分子量1000以下のポリエチレングリコールである、請求項21または22記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項24】

カルボキシル基がカルボジイミドによって修飾された請求項19に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項25】

一分子当たり少なくとも3個以上のカルボキシル基が修飾された請求項19~24のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項26】

一分子当たり少なくとも25個以下のカルボキシル基が修飾された請求項19~24のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項27】

少なくともB鎖25番目のグルタミン酸のカルボキシル基が修飾された請求項19~26のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項28】

血小板のリストセチン凝集抑制能が向上した請求項 1 9 ~ 2 7 のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項29】

血小板のGPIb  $\alpha$  拮抗能を有する請求項  $19 \sim 27$  のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項30】

野生型トロンビンのアミノ酸配列において、B鎖の205番目のセリン、203番目のグリシン、43番目のヒスチジン、および99番目のアスバラギン酸から選ばれた少なくとも2つのアミノ酸が置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。

#### 【請求項31】

野生型トロンビンのアミノ酸配列において、B鎖の203番目のグリシン、43番目のヒスチジン、および99番目のアスパラギン酸から選ばれた少なくとも1つのアミノ酸と、B鎖の205番目のセリンが置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。

## 【請求項32】

B鎖の205番目のセリンを置換するアミノ酸が、アラニン、スレオニン、グリシン、およびシステインのいずれかである請求項30または31に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項33】

B鎖の205番目のセリンを置換するアミノ酸がグリシンである請求項30または31に記載のトロンビン誘導体。

### 【請求項34】

B鎖の205番目のセリンを置換するアミノ酸がアラニンである請求項30または31に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項35】

B鎖の203番目のグリシンを置換するアミノ酸が、アラニン、スレオニン、およびセリンのいずれかである請求項30または31に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項36】

B鎖の99番目のアスパラギン酸を置換するアミノ酸が、アスパラギンである請求項30または31に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項37】

B鎖の43番目のヒスチジンを置換するアミノ酸が、アラニンまたはアスパラギンである請求項30または31に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項38】

野生型トロンビンのアミノ酸配列において、少なくともB鎖の203番目のグリシンとB鎖の205番目のセリン置換されたトロンビンであって、該205番目のセリンがグリシンに置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。

## 【請求項39】

B鎖の203番目のグリシンがアラニンに置換された、請求項38に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項40】

野生型トロンビンのアミノ酸配列において、B鎖の205番目のセリン及びB鎖の43番目のヒスチジンが他のアミノ酸に置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。

#### 【請求項41】

B鎖の205番目のセリンを置換する他のアミノ酸がグリシン、アラニン、スレオニン、システインのいずれかである、請求項40に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項42】

野生型トロンビンのアミノ酸配列において、B鎖の205番目のセリンがアラニンに置換され、B鎖の43番目のヒスチジンがアラニンに置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。

## 【請求項43】

さらに、ナトリウム結合部位のアミノ酸が置換された、請求項30~42のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項44】

ナトリウム結合部位のアミノ酸がB鎖の232番目又は234番目のアスパラギン酸である請求項43に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項45】

さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入又は付加され、ヒルジンC末端ペプチド結合能が野生型トロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下である請求項30~44のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項46】

さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入又は付加され、トロンビンレセプター結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下である請

求項30~44のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項47】

さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入又は付加され、トロンボモジュリンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した請求項30~44のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

# 【請求項48】

さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換され、トロンボモジュリンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した請求項30~44のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項49】

さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換され、抗血液凝固カスケード又は抗血小板効果のいずれか又は両方を保持し、且つトロンボモジュリンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した請求項30~44のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項50】

さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入又は付加され、フィブリノゲンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した請求項30~44のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項51】

さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換され、フィブリノゲンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した請求項30~44のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項52】

さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換され、抗血液凝固カスケード又は抗血小板効果のいずれか又は両方を保持し、且つフィブリノゲンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した請求項30~44のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項53】

さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換され、該置換によってトロンビンレセプター又は血液凝固第8因子への結合能がトロンボモジュリンへの結合能に比較し相対的に2倍以上に高まった請求項 $30\sim44$ のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項54】

さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換され、該置換によってトロンビンレセプター又は血液凝固第8因子への結合能がフィブリノゲンへの結合能に比較して相対的に2倍以上に高まった請求項30~44のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項55】

置換されるアミノ酸がB鎖の77番目のリシンである請求項47~54のいずれか一項に 記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項56】

B鎖の77番目のリシンを置換するアミノ酸が、アラニンまたはグルタミン酸である請求項55に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項57】

置換されるアミノ酸がB鎖の24番目のグルタミンである請求項47~54のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項58】

野生型トロンビンがヒト野生型トロンビンである、請求項30~57のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項59】

ヒト野生型トロンビンが配列番号2のアミノ酸配列を含む蛋白質である請求項58に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項60】

カルボキシル基が修飾された請求項30~59のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体

# 【請求項61】

アミノ酸のエステルによってカルボキシル基が修飾された請求項60記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項62】

ポリエチレングリコールによってカルボキシル基が修飾された請求項60記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項63】

アミノ基を有するポリエチレングリコールによってカルボキシル基が修飾された請求項 6 0 記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項64】

前記ポリエチレングリコールが分子量1000以下のポリエチレングリコールである、請求項62または63記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項65】

カルボキシル基がカルボジイミドによって修飾された請求項60に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項66】

一分子当たり少なくとも3個以上のカルボキシル基が修飾された請求項60~65のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項67】

一分子当たり少なくとも 2 5 個以下のカルボキシル基が修飾された請求項 6 0 ~ 6 5 のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

## 【請求項68】

少なくともB鎖25番目のグルタミン酸のカルボキシル基が修飾された請求項60~67 のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項69】

血小板のリストセチン凝集抑制能が向上した請求項60~68のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項70】

血小板のGPIb  $\alpha$  拮抗能を有する請求項 6 0  $\sim$  6 8 のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。

#### 【請求項71】

請求項1~29のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体をコードするDNA。

#### 【請求項72】

請求項30~59のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体をコードするDNA。

## 【請求項73】

請求項1~70のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体を含有する医薬組成物。

#### 【請求項74】

抗血栓剤である請求項73に記載の医薬組成物。

#### 【請求項75】

抗炎症剤である請求項73に記載の医薬組成物。

#### 【請求項76】

血小板凝集抑制剤である請求項73に記載の医薬組成物。

#### 【請求項77】

血小板粘着抑制剤である請求項73に記載の医薬組成物。

# 【請求項78】

内因系血液凝固抑制剤である請求項73に記載の医薬組成物。

【請求項79】

トロンビンレセプター活性化抑制剤である請求項73に記載の医薬組成物。

【請求項80】

抗血液凝固作用と抗血小板作用の両方を有する請求項73に記載の医薬組成物。

## 【書類名】明細書

【発明の名称】トロンビン誘導体、およびそれを含有する医薬組成物

## 【技術分野】

## [0001]

本発明は、トロンビン誘導体、およびそれを含有する医薬組成物、特に抗血栓剤、抗炎症剤に関する。

## 【背景技術】

#### [00002]

トロンビンは血小板凝集反応や炎症反応などを担う、トリプシンと非常に相同性の高いトリプシン様のセリンプロテアーゼである。例えば、非特許文献1には、トロンビンが、基質であるトロンビンレセプターを活性化することによって血小板凝集反応、血管内皮細胞活性化、炎症反応を起こすことが記載されている。

## [0003]

## $[0\ 0\ 0\ 4\ ]$

これらをもとに、抗血栓剤等の開発のために、様々なトロンビンの修飾・改変が試みられている。特許文献 1 には、セリンプロテアーゼと競争してセリンプロテアーゼの基質に結合することによって、該セリンプロテアーゼと該基質との反応を抑制する物質 (以下「反応抑制物質」と言うことがある)を含有するセリンプロテアーゼ抑制剤が開示されている。さらに該文献には、このセリンプロテアーゼ抑制剤は、抗血栓剤(血栓形成抑制剤)として有効であることが記載されている。該文献には、該反応抑制物質の具体例として、セリンプロテアーゼであるトロンビンと、フェニルメチルスルフォニルフルオリド(以下「PMSF」と言うことがある)などの阻害剤とを反応させ、活性部位に存在するセリンをデヒドロアラニンに転換すること(以下「アンヒドロ化」と言うことがある)により、セリンプロテアーゼ活性が著しく低下したトロンビン誘導体(以下「AHT」と言うことがある)が開示されている。

#### [0005]

また、特許文献2には、アンヒドロトロンビンのカルボキシル基とイミドとを反応させ、アンヒドロトロンビンを化学的に修飾したアンヒドロトロンビン誘導体(以下「MーAHT」と言うことがある)が開示されている。MーAHTは、血液中に大量に存在するフィブリノゲンへの結合能が選択的に低いことから、AHTに較べて部分活性化トロンボプラスチン時間(APTT)延長効果が飛躍的に増加し高い抗血栓効果を有する。

#### $[0\ 0\ 0\ 6\ ]$

一方で、アミノ酸置換を有するトロンビン誘導体の研究も行われている。トロンビンの 遺伝子組み換えによる活性中心の置換体はこれまで下記のように幾つかの検討がなされて きた。

#### $[0\ 0\ 0\ 7\ ]$

例えば、非特許文献 5 には活性中心セリンをアラニンに置換したトロンビンを作製し白血球への影響が述べられている。この誘導体の活性に関しては活性を失ったトロンビン組

[0008]

その他のトロンビン誘導体については、特許文献3、非特許文献7~9に開示されるように、遺伝子工学的にアミノ酸置換を導入することによって基質活性化能を有したまま抗血液凝固効果を持つようになったトロンビン誘導体が報告されている。これらに開示されるトロンビン誘導体はトロンボモジュリン特異性が保持または増強されており、且つフィブリノゲン分解能が著しく低下した誘導体であり、トロンボモジュリンに特異的に結合しプロテイン(を活性化する事で抗血栓性を有する誘導体である。

特許文献4には、活性中心のアミノ酸が置換され、さらにヒルジンを中和する事で抗凝 固を抑制するプロトロンビン誘導体が開示されている。

特許文献 5 , 6 には、活性中心セリンがアラニンに置換されたトロンビン、及び活性中心セリンがアラニンに、かつ活性中心アスパラギン酸がアスパラギンに置換されたトロンビンが、洗浄血小板懸濁液中においてトロンビンによるトロンビンレセプターへの刺激を抑制した事が記載されている。

しかしながら、これら報告のアミノ酸置換によって得られるトロンビン誘導体は血液中に多量に存在するフィブリノゲンと強い親和性を持つため、加えたトロンビン誘導体の殆どがフィブリノゲンに結合してしまい、抗トロンビンレセプター効果を得るために多量の投与が必要となり、血液中で抗トロンビンレセプター剤(抗血小板剤)として使用することは実質的には不可能であった。

【特許文献1】国際公開第01/03740号バンフレット

【特許文献2】国際公開第02/077031号パンフレット

【特許文献 3 】 特表平 0 9 - 5 0 9 0 4 5 号 公報

【特許文献4】特表平11-507542号公報

【特許文献5】特表平6-508742号公報

【特許文献 6 】 特開 2 0 0 3 - 1 5 9 0 8 8 号公報

【非特許文献 1 】 J. Biol. Chem. 261(1986)15928-15933

【非特許文献2】日本血栓止血学会誌 第10巻 2,3号(1999)

【非特許文献3】 Biochemical J. (2001) 354.309-313

【非特許文献4】ヴォート生化学 上巻 1996年 p331-340 東京化学 同人

【非特許文献5】Experimental cell research 219, 650-656(1995)

【非特許文献6】 Biochimica et Biophyscia Acta 1451(1999) 173-186

【非特許文献7】 J. Biol. Chem Vol. 275, 39827-39830

【非特許文献8】 J. Biol. Chem Vol. 279, 26387-26394

【非特許文献9】 J. Biol. Chem Vol. 277, 27581-27584

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

[0009]

AHTやM-AHTのように化学的手法により得られたトロンビン誘導体は、抗血栓効果や抗炎症効果を有しているが、セリンプロテアーゼ活性にばらつきがあり、AHTへ変換する際のアルカリ処理、再生処理等の多工程を必要とし、回収率も50から60%と十分ではないという改善すべき点があった。

また、M-AhTにおいても微量に存在する残存トロンビン活性が、その抗凝固能を低下させる問題点があった。

## $[0\ 0\ 1\ 0]$

また、従来トロンビンにおいて報告されている多くの配列において活性中心のトロンビン置換体を作成したところ、抗血栓、抗炎症剤としての十分な機能を有していなかった。理由として、これら報告の置換体は抗血栓、抗炎症剤として用いる目的において実質的なトロンビン基質分解活性を有する、あるいは置換による影響で主にエクソサイト I の構造変化にともないトロンビン基質結合能が著しく低下している等の問題が考えられた。例えばBiochimica et Biophyscia Acta 1451(1999) 173-186の中で活性が完全に喪失したと報告されるB鎖203グリシンをアラニンに置換したトロンビンにおいても、本発明で定義される抗血栓、抗炎症剤として用いる目的においての実質的なトロンビン基質分解活性が残存していた。さらにB鎖203グリシン及び活性中心ヒスチジン及びアスバラギン酸の置換は活性をより低下させるものの、その組み合わせによってはエクソサイト I の構造変化を招きトロンビン基質結合能が損なわれる場合があった。

本発明は、基質分解活性を実質的に欠き、且つ血栓形成に重要なトロンビン基質に特異的に結合することにより、生体に投与した場合に実質的に抗血栓、抗炎症剤として使用可能なトロンビン誘導体を提供することを課題とする。

## 【課題を解決するための手段】

## $[0\ 0\ 1\ 1]$

本発明者は前述の従来技術の問題点に鑑み鋭意研究を重ねた。その結果、トロンビンのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が、遺伝子組換操作により置換されたトロンビンであり且つ抗血栓、抗炎症剤として用いる目的において実質的にトロンビン基質を分解しないレベルに活性が低下していれば、AHT同様のAPTT延長を主効果とした抗血栓症効果が得られる事を見出した。さらに本発明で測定される基質活性化能を完全に失っている誘導体であればインキュベーションに影響を受けることなく確実にAPTTが延長されること、さらに、血栓形成に重要なトロンビン基質に対しより特異的な結合能を有していれば、より確実にAHT以上の抗血栓、抗炎症効果が得られる事を見出した。

#### $[0\ 0\ 1\ 2]$

また、トロンビンの活性中心の置換方法についてさらなる検討を行ったところ、トロンビン誘導体において活性中心セリンの置換はアラニン、スレオニン、グリシン、システインへの置換であればエクソサイト | の構造が保持されトロンビン基質結合能が保たれることを見出した。

さらに、B鎖の205番目のセリン(活性中心セリン)、203番目のグリシン、43番目のヒスチジン(活性中心ヒスチジン)、および99番目のアスパラギン酸(活性中心アスパラギン酸)から選ばれた少なくとも2つのアミノ酸を置換することにより、エクソサイト | の構造及びトロンビン基質結合能を保持し、且つ抗血栓、抗炎症剤として用いる目的において実質的なトロンビン基質分解活性を喪失した、抗血栓、抗炎症効果を持ったトロンビン誘導体が得られる事を見出した。

上記置換の中でも、例えば、活性中心セリン及び活性中心ヒスチジンの置換により、トロンビン基質認識性が変化し、(主として血液凝固VIII因子特異性が向上(フィブリノゲン特異性が低下)する)、他の活性中心のアミノ酸を置換したトロンビン誘導体に比較して、低濃度においても主に血液凝固カスケード(特に部分活性化トロンボプラスチン時間(APTT))特異的な抗血栓効果を発揮するトロンビン誘導体が得られる事を見出した。

#### $[0\ 0\ 1\ 3\ ]$

本発明者はまた、上記変異体のナトリウム結合領域を置換あるいは修飾することによってさらにトロンビン基質分解活性を低下させることができることを見出した。

さらに、上記アミノ酸置換以外のさらなる置換によって、血中に多量に存在するフィブリノゲンに対するトロンビン誘導体の親和性を、トロンビンレセプター又は血液凝固第8因子に対し相対的に低下させることにより、トロンビン基質特異性がさらに限定され、より少ない投与量によって良好な抗血栓効果を得ることができることを見出した。

さらに、上記アミノ酸置換に加え、トロンビン誘導体が持つ抗血栓性を損なうことなく、トロンビン誘導体のトロンボモジュリン親和性を特異的に低下させることで、生体投与されたトロンビン誘導体が血管内皮細胞上でトロンボモジュリンに結合し、本来生体内で起こるトロンビンによるトロンボモジュリン上におけるプロテイン(の活性化を抑制することを防ぐことができ、より有効な抗血栓剤として機能しうる事を見出した。

また、国際公開第02/077031号パンフレット記載のカルボキシル基修飾アンヒドロトロンビンの効果が主にAPTT延長効果が主体であったのに対し、上記遺伝子組み換えによって得られた種々のトロンビン誘導体を、さらに国際公開第02/077031号パンフレット記載のカルボキシル基修飾方法を用いて一定範囲の個数の修飾を行った誘導体は、その活性中心及びその他のアミノ酸の置換、及び変異体の配列の組み合わせに依存し、APTT延長及び抗血小板効果のバランスを選択しうる様々な特徴の抗血栓効果を有する事を見出した。

特に本発明の種々のアミノ酸置換型トロンビン誘導体をさらにカルボキシル基修飾することにより、非常に高いAPTT延長効果を持ち 且つ強い抗血小板効果(特にPAR1活性化及びリストセチン惹起血小板凝集抑制効果)を有する誘導体、中程度のAPTT延長効果を持ち且つ強い抗血小板効果を有する誘導体などが得られ、アミノ酸置換とカルボキシル基修飾の組み合わせにより種々の血栓症に適応しうる抗血液凝固効果、抗血小板効果を持ったトロンビン誘導体が作製できることを見出した。

本発明者はこれらの知見に基づいて本発明を完成させた。

## $[0\ 0\ 1\ 4]$

すなわち、本発明は、以下のとおりである。

- (1)野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下であるトロンビン誘導体。
- (2)トロンビン基質結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上である(1)のトロンビン誘導体。
  - (3) ヒルジンC末端ペプチド結合能を有する(1)のトロンビン誘導体。
- (4)トロンビンレセプター結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上である(1)のトロンビン誘導体。
- (5) ヘパリン結合能が野生型トロンビンと同程度である(1) ~ (4) の何れかのトロンビン誘導体。
- (6) 0.1 MoN a C 1 を含む pH7.4 の50 mMトリス塩酸中でトロンビン基質と37℃で3時間反応させたときに分解されるトロンビン基質の割合が10%以下である(1)~(5)の何れかのトロンビン誘導体。
  - (7)トロンビン基質が血液凝固第13因子である(6)のトロンビン誘導体。
- (8)トロンビン基質がトロンビンレセプター細胞外ドメインのペプチドである(6)のトロンビン誘導体。
  - (9)トロンビン基質がフィブリノゲンである(6)のトロンビン誘導体。
- (10)0. 1 MのNaClを含むpH7.4の50mMトリス塩酸に溶解した1mg/mlフィブリノゲン溶液に、終濃度が0.1mg/mlになるように加えて、37  $\mathbb C$ 、3 時間インキュベーションしたときにフィブリンクロットを形成させない(1)~(6)の何れかのトロンビン誘導体。
- (11)トロンボモジュリンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下である(1)  $\sim$  (10)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (12)抗血液凝固カスケード効果もしくは抗血小板効果、またはその両方を有し、さらにトロンボモジュリンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下である(1)~(1

- 0)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (13)フィブリノゲンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下である(1)~( 10)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (14)抗血液凝固カスケード効果もしくは抗血小板効果、またはその両方を有し、さらにフィブリノゲンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下である(1)~(10)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (15)トロンビンレセプター又は血液凝固第8因子への結合能がトロンボモジュリンへの結合能に比較し相対的に2倍以上に高まった(1)~(10)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (16)トロンビンレセプターまたは血液凝固第8因子への結合能がフィブリノゲンへの結合能に比較して相対的に2倍以上に高まった(1)~(10)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (17)野生型トロンビンがヒト野生型トロンビンである、(1)~(16)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (18)ヒト野生型トロンビンが配列番号2のアミノ酸配列を含む蛋白質である(17)のトロンビン誘導体。
- (19)カルボキシル基が修飾された(1)~(18)のいずれかのトロンビン誘導体 -
- (20) アミノ酸のエステルによってカルボキシル基が修飾された(19) のトロンビン誘導体。
- (21)ポリエチレングリコールによってカルボキシル基が修飾された(19)のトロンビン誘導体。
- (22) アミノ基を有するポリエチレングリコールによってカルボキシル基が修飾された(19) のトロンビン誘導体。
- (23)前記ポリエチレングリコールが分子量1000以下のポリエチレングリコールである、(21)または(22)のトロンビン誘導体。
- (24) カルボキシル基がカルボジイミドによって修飾された(19) のトロンビン誘導体。
- (25) 一分子当たり少なくとも3個以上のカルボキシル基が修飾された(19)~( 24) のいずれかのトロンビン誘導体。
- (26)一分子当たり少なくとも25個以下のカルボキシル基が修飾された請求項29 ~24のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。
- (27) 少なくともB鎖25番目のグルタミン酸のカルボキシル基が修飾された(19)  $\sim$  (26) のいずれかのトロンビン誘導体。
- (28)血小板のリストセチン凝集抑制能が向上した(19)~(27)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (29) 血小板の $GP \mid \mathbf{b} \alpha$  拮抗能を有する(19)  $\sim$  (27) のいずれかのトロンビン誘導体。
- (30)野生型トロンビンのアミノ酸配列において、B鎖の205番目のセリン、203番目のグリシン、43番目のヒスチジン、および99番目のアスパラギン酸から選ばれた少なくとも2つのアミノ酸が置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。
- (31)野生型トロンビンのアミノ酸配列において、B鎖の203番目のグリシン、43番目のヒスチジン、および99番目のアスバラギン酸から選ばれた少なくとも1つのアミノ酸と、B鎖の205番目のセリンが置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。
- (32) B鎖の205番目のセリンを置換するアミノ酸が、アラニン、スレオニン、グリシン、およびシステインのいずれかである(30)または(31)のトロンビン誘導体
- (33) B鎖の205番目のセリンを置換するアミノ酸がグリシンである(30) または(31) のトロンビン誘導体。

- (34) B鎖の205番目のセリンを置換するアミノ酸がアラニンである(30) または(31) のトロンビン誘導体。
- (35) B鎖の203番目のグリシンを置換するアミノ酸が、アラニン、スレオニン、およびセリンのいずれかである(30)または(31)のトロンビン誘導体。
- (36) B鎖の99番目のアスパラギン酸を置換するアミノ酸が、アスパラギンである(30) または(31) のトロンビン誘導体。
- (37) B鎖の43番目のヒスチジンを置換するアミノ酸が、アラニンまたはアスパラギンである(30) または(31) のトロンビン誘導体。
- (38)野生型トロンビンのアミノ酸配列において、少なくともB鎖の203番目のグリシンとB鎖の205番目のセリン置換されたトロンビンであって、該205番目のセリンがグリシンに置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。
- (39) B鎖の203番目のグリシンがアラニンに置換された、(38) のトロンビン誘導体。
- (40)野生型トロンビンのアミノ酸配列において、B鎖の205番目のセリン及びB鎖の43番目のヒスチジンが他のアミノ酸に置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。
- (41) B鎖の205番目のセリンを置換する他のアミノ酸がグリシン、アラニン、スレオニン、システインのいずれかである、(40)のトロンビン誘導体。
- (42)野生型トロンビンのアミノ酸配列において、B鎖の205番目のセリンがアラニンに置換され、B鎖の43番目のヒスチジンがアラニンに置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体。
- (43) さらに、ナトリウム結合部位のアミノ酸が置換された、(30) ~ (42) のいずれかのトロンビン誘導体。
- (44)ナトリウム結合部位のアミノ酸がB鎖の232番目又は234番目のアスパラギン酸である(43)のトロンビン誘導体。
- (45) さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入又は付加され、ヒルジンC末端ペプチド結合能が野生型トロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下である(30)~(44)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (46)さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入又は付加され、トロンビンレセプター結合能がアンヒドロトロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下である(30)~(44)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (47) さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入又は付加され、トロンボモジュリンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した(30)~(44)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (48) さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換され、トロンボモジュリンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した(30)~(44)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (49) さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換され、抗血液凝固カスケード又は抗血小板効果のいずれか又は両方を保持し、且つトロンボモジュリンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した(30)~(44)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (50) さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入又は付加され、フィブリノゲンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した(30)~(44)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (51) さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換され、フィブリノゲンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した(30) ~ (44) のいずれかのトロンビン誘導体。
  - (52)さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミ

ノ酸が置換され、抗血液凝固カスケード又は抗血小板効果のいずれか又は両方を保持し、 且つフィブリノゲンとの結合能が野生型トロンビンの50%以下に低下した(30)~( 44)のいずれかのトロンビン誘導体。

- (53) さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換され、該置換によってトロンビンレセプター又は血液凝固第8因子への結合能がトロンボモジュリンへの結合能に比較し相対的に2倍以上に高まった(30)~(44))のいずれかのトロンビン誘導体。
- (54) さらに、前記置換されたアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換され、該置換によってトロンビンレセプター又は血液凝固第8因子への結合能がフィブリノゲンへの結合能に比較して相対的に2倍以上に高まった(30)~(44)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (55) 置換されるアミノ酸がB鎖の77番目のリシンである(47)~(54)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (56) B鎖の77番目のリシンを置換するアミノ酸が、アラニンまたはグルタミン酸である(55)のトロンビン誘導体。
- (57) 置換されるアミノ酸がB鎖の24番目のグルタミンである(47)  $\sim$  (54) のいずれかのトロンビン誘導体。
- (58)野生型トロンビンがヒト野生型トロンビンである、(30)~(57)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (59)ヒト野生型トロンビンが配列番号2のアミノ酸配列を含む蛋白質である(58)のトロンビン誘導体。
- (60) カルボキシル基が修飾された(30)  $\sim$  (59) のいずれかのトロンビン誘導体。
- (61)アミノ酸のエステルによってカルボキシル基が修飾された(60)のトロンビン誘導体。
- (62)ポリエチレングリコールによってカルボキシル基が修飾された(60)のトロンビン誘導体。
- (63) アミノ基を有するポリエチレングリコールによってカルボキシル基が修飾された(60) のトロンビン誘導体。
- (64)前記ポリエチレングリコールが分子量1000以下のポリエチレングリコールである、(62)または(63)のトロンビン誘導体。
- (65)カルボキシル基がカルボジイミドによって修飾された(60)のトロンビン誘導体。
- (66)一分子当たり少なくとも3個以上のカルボキシル基が修飾された請求項60~65のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。
- (67) 一分子当たり少なくとも25個以下のカルボキシル基が修飾された請求項60~65のいずれか一項に記載のトロンビン誘導体。
- (68)少なくともB鎖25番目のグルタミン酸のカルボキシル基が修飾された(60)~(67)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (69)血小板のリストセチン凝集抑制能が向上した(60)~(68)のいずれかのトロンビン誘導体。
- (70)血小板のGPIb  $\alpha$  拮抗能を有する(60)~(68)のいずれかのトロンビン誘導体。
  - $(71)(1)\sim(29)$  のいずれかのトロンビン誘導体をコードするDNA。
  - (72)(30)~(59)のいずれかのトロンビン誘導体をコードするDNA。
  - (73)(1)~(70)のいずれかのトロンビン誘導体を含有する医薬組成物。
  - (74)抗血栓剤である(73)の医薬組成物。
  - (75)抗炎症剤である(73)の医薬組成物。
  - (76)血小板凝集抑制剤である(73)の医薬組成物。
  - (77)血小板粘着抑制剤である(73)の医薬組成物。

- (78)内因系血液凝固抑制剤である(73)の医薬組成物。
- (79)トロンビンレセプター活性化抑制剤である(73)の医薬組成物。
- (80) 抗血液凝固作用と抗血小板作用の両方を有する(73)の医薬組成物。

## 【発明の効果】

# [0015]

本発明のトロンビン誘導体は、従来の化学的手法により得られたトロンビン誘導体に比べて、より少ない使用量で安定な抗血栓効果を得ることが出来る。なぜならば、従来のAHTやM-AHTのように化学的手法により得られたものに比べ、得られるトロンビン誘導体個々のトロンビン基質分解活性やトロンビン基質結合能のばらつきが実質的に皆無であるからである。さらに、本発明のトロンビン誘導体は、AHTやM-AHTのようにトロンビンからアンヒドロ化、再生処理の多工程を経ずに高回収率で抗血栓、抗炎症作用をもった不活性化トロンビンを得ることができる。また、従来の変異体に比べても、トロンビン基質分解活性が低いため、より少ない使用量で安定な抗血栓効果を得ることが出来る。

また、活性中心及びその他のアミノ酸の置換を行うことにより、血中に多量に存在するトロンビン基質であるフィブリノゲンへの親和性を特異的に低下させることで、より低濃度で高い抗血栓効果を得ることができる。さらにアミノ酸の置換によりトロンボモジュリンとの親和性を特異的に低下させた誘導体は、生体内でのプロテイン(活性化を阻害する事が抑制し、生体内においてAhTやM-AhTと比較しより高い抗血栓効果を有する。

また、本発明のアミノ酸の置換を行ったトロンビン誘導体と国際公開第02/0770 31号パンフレットのカルボキシル基修飾の組み合わせによって、該文献記載のカルボキシル基修飾アンヒドロトロンビンとは異なる種々の特徴を持った抗血栓効果を持ったトロンビン誘導体を得ることができる。

## 【発明を実施するための最良の形態】

## $[0\ 0\ 1\ 6]$

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明のトロンビン誘導体は、野生型トロンビンのアミノ酸を1個もしくは数個置換して得られるトロンビン誘導体であって、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの活性よりも低下した誘導体である。ここで数個とは、2~20個、好ましくは2~10個、より好ましくは2~5個を意味する。なお、本発明のトロンビン誘導体は、トロンビン基質への結合能を保持していることが好ましい。

#### $[0\ 0\ 1\ 7]$

ここで野生型トロンビンとしてはヒトの野生型トロンビンが好ましく、配列番号 2 のアミノ酸配列を含むトロンビンがより好ましい。この配列はヒト野生型トロンビンのA鎖及びB鎖を含む配列である。なお、生体内では、トロンビンは、プロトロンビン(トロンビン前駆体)がXa因子などのプロテアーゼによって切断され、A鎖(例えば配列番号 2 のアミノ酸番号  $1\sim4$  9の領域)及びB鎖(例えば配列番号 2 のアミノ酸番号 5 0  $\sim3$  0 8の領域)が5-S結合によって架橋された立体構造を有している(血栓・止血・線溶 中外医学社 p 1 6 4 - 1 6 7 )。したがって、本発明におけるトロンビン誘導体は、生体内で前記構造をとることができるものであれば特に制限されず、A鎖及びB鎖の両鎖を含むトロンビンだけでなく、遺伝子組換えや化学合成などで別々に作製されたA鎖とB鎖が生体内に投与され、生体内で前記のA鎖及びB鎖が5-S結合によって架橋された立体構造をとるようになったものも含む。さらに、生体内で前記の立体構造をとることのできるプロトロンビンやプレトロンビンなどのトロンビン前駆体蛋白質も本発明のトロンビン誘導体に含まれる。

#### [0018]

本発明において、「トロンビン基質への結合能」とは、血液凝固第VIII因子やトロンビンレセプターなどのトロンビン基質やその一部のペプチドに対する結合能を意味する。トロンビン基質としては血液凝固第8因子及びトロンビンレセプターが血栓形成及び炎症作用の進行に非常に重要であり、実質的には血液凝固第8因子及びトロンビンレセプターの

トロンビンによる活性化を抑制することで血栓形成及び炎症作用は充分抑制される。したがって、トロンビン基質としては血液凝固第8因子あるいはトロンビンレセプターのトロンビン結合領域を含むペプチドが好ましい。

本発明において、抗血栓作用とは、好ましくは、抗血小板、抗血液凝固の1次止血、2次止血を合わせた全体での抗血栓作用を意味する。本発明の抗血小板作用、及び抗血液凝固作用を有するトロンビン誘導体は、例えば、1次止血においては主にGP1b  $\alpha$  (血小板受容体糖タンパク質1b  $\alpha$ ) 及びトロンビンレセプターに作用することで血小板へのカルボキシル基修飾トロンビン、リストセチン及びずり応力等の刺激を抑制して血小板凝集及び粘着を抑制し、2次止血においては主に血液凝固第8因子の活性化を抑制してAPTT(部分活性化トロンボプラスチン時間)を特異的に延長する。

本発明では、抗血小板効果確認の中でカルボキシル基修飾トロンビン惹起血小板凝集抑制 効果を用いて評価している。

カルボキシル基修飾トロンビンがPRP(多血小板血漿:platelet rich plasma)中において血小板凝集を惹起すること、及びその血小板凝集惹起は抗PARI抗体(ATAP2 コスモバイオ社)によって阻害されることから、カルボキシル基修飾トロンビンはPARIを介して血小板を活性化すると考えられる。したがって、本発明で得られる誘導体のカルボキシル基修飾トロンビン惹起血小板凝集を阻害する効果はPARI活性化阻害効果に基づくと考えられる。

## [0019]

また、「トロンビン基質への結合能」は、トロンビン基質に保存されている領域のアミ ノ酸配列を有するペプチド、例えば、ヒルジン(末端ペプチドなどに対する結合量を測定 することによってスクリーニングしてもよい。トロンビンのエクソサイト」は多くの血栓 形成、炎症作用を持ったトロンビン基質蛋白質への結合に最も重要な役割を果たす必須の 領域として報告されている領域であるが(Journal of Biological Chemistry 1989Vol 26 4 8692-8698) 、ヒルジン(末端ペプチドはこのエクソサイト]に対し特異的に結合するこ とが知られる(Journal of Biological Chemistry 1991 Vol 266 23633-23636)。特に、 血小板活性化を通じて血栓形成に重要な働きを持つトロンビンレセプターはヒルジン(末 端領域に高い相同性を持ち、エクソサイト「へ強固に結合する事が報告されている。よっ てヒルジン(末端ペプチドに対する結合能を失っているものはエクソサイト|の構造が破壊 されトロンビンレセプターをはじめとする多くのトロンビン基質への結合能を失っている ものと考えられる。ヒルジン〔末端ペプチド(例えば、配列番号3)に対する結合能は、 実施例に示すようにヒルジンカラムへのトロンビン誘導体の結合量を測定することによっ て行うことができる。本発明のトロンビン誘導体は、野生型トロンビン又はアンヒドロト ロンビンの1%以上、好ましくは10%以上、より好ましくは80%以上のトロンビン基 質結合能を保持していることが望ましい。ここで、アンヒドロトロンビンはトロンビンの 活性中心セリンが脱水酸化されたトロンビンであって、具体的には、国際公開第01/0 3740号バンフレットの実施例1記載のアンヒドロトロンビンを例示することができる

## [0020]

一方、本発明のトロンビン誘導体は、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの活性よりも低下していることが好ましいが、この「トロンビン基質分解活性」は、フィブリノゲン、血液凝固第13因子、トロンビンレセプターなどの生体基質や\$2238(シグマ社より入手可)などの合成基質を用いて測定することができる。ただしトロンビン誘導体を化学修飾などにより本来トロンビンの持つ基質特異性を変化させている場合、トロンビン誘導体が特異性を残している基質を選択する必要がある。但しトロンビン誘導体と蛋白質基質のKmより明らかに基質が高濃度で測定される場合には活性測定に基質特異性は影響は無いと考えられる。また、フィブリノゲン凝固活性を確認することによっても「トロンビン基質分解活性」を測定することが出来る。

## $[0\ 0\ 2\ 1\ ]$

本発明のトロンビン誘導体の活性は、野生型トロンビンに比べてより一層低下したレベ

ルである事が望ましい。具体的には100万分の1以下、さらに望ましくは1000万分の1以下に低下していることが望ましい。トロンビンの生理的条件下における蛋白質基質活性化におけるkcat値は約100sec $^{-1}$ ほどにもなり、他多くの基質に対しても同等のkcat値を示す。 5ット投与実験におけるアンヒドロトロンビン生体内薬効半減期は1時間以内であり、ヒトにおいても同等以上が予測され、1000万分の1以下であれば抗血栓、抗炎症効果を目的としてトロンビン誘導体を投与した際、数時間にわたって蛋白性のトロンビン基質と結合した場合にもトロンビン誘導体のトロンビン基質分解活性が問題となることがないと考えられる。

## [0022]

ただし、実際には合成基質による活性測定は種々のプロテアーゼの影響を大きく受け、 100万分の1のレベルの活性を正確に測定する事は難しく、正確な基質分解活性は、より好ましくはトロンビンの蛋白質基質に対する分解活性を測定した方がより微妙な分解活性を確認する事ができる。

より具体的には、本発明のトロンビン誘導体は、例えば、実施例で示すような生理的条件下、3時間、フィブリノゲン、血液凝固第13因子、トロンビンレセプター、プロテイン (などのトロンビン基質と混合し反応させた場合の該基質の分解が10%以下のものを挙げることができる。上記条件であれば生体への投与後、本誘導体が代謝されるまでの間の本誘導体によるトロンビン基質活性化は問題にならないと考えられる。

本発明で得られるトロンビン誘導体は特表平09-509045、J. Biol. Chem Vol. 275, 39827-39830, J. Biol. Chem Vol. 279, 26387-26394, J. Biol. Chem Vol. 277, 27581-27584, に開示されるトロンビン誘導体とは異なる抗血栓作用の機構を有する。

すなわち、これらの文献に開示されるトロンビン誘導体はトロンボモジュリン特異性が保持又は向上しており、優先的にプロテイン(を活性化する事で抗血栓性を発揮する。これに対し、本発明のトロンビン誘導体はプロテイン(を含むトロンビン基質の活性化能を有さない。また反対にトロンボモジュリン親和性もより低下している事が望ましい。本発明のトロンビン誘導体は、より特異的に、血栓形成に重要なトロンビン基質に対し、活性化すること無しに結合し、血液中に存在するトロンビンによるこれらトロンビン基質の活性化を抑制することによって抗血栓性を発揮する。

## [0023]

本発明のトロンビン誘導体は、通常の遺伝子変異導入法によってトロンビンの変異体をコードするDNAを作製し、該DNAを哺乳動物細胞などで発現させることによって得られる変異体の中から基質分解活性が低下し、かつ、ヒルジン及びトロンビン基質に対する結合能を保持しているものを選択することによって第一段階のスクリーニングをすることができる。

#### [0024]

本発明の1個又は数個のアミノ酸を置換して得られるトロンビン誘導体は、抗血栓、抗 炎症剤として用いる目的において、実質的にトロンビン基質分解活性を喪失しており、且 つ基質結合能を野生型トロンビンと同等に保持していれば特に制限されるものではないが、 具体的には、B鎖の205番目のセリン(B鎖205;配列番号2の254番目のセリンに相当するセリン)、203番目のグリシン(B鎖203;配列番号2の252番目のケリシンに相当するグリシン)、43番目のヒスチジン(B鎖43;配列番号2の92番目のヒスチジンに相当するヒスチジン)、および99番目のアスバラギン酸(B鎖999;配列番号2の148番目のアスバラギン酸に相当するアスバラギン酸)から選ばれた2つ以上のアミノ酸が置換されたトロンビン誘導体であることが好ましく、B鎖の203番目のアスバラギン酸配列を有するトロンビン誘導体が特に好まして、B鎖の205番目のセリンが置換されたアミノ酸配列を有するトロンビン誘導体が特に好ましい。

#### [0025]

活性中心であるB鎖205番目のセリンは、その置換によってエクソサイト Iの構造が破壊されてトロンビン基質結合能が損なわないようにするために、スレオニン、アラニン、グリシン、システインのいずれかに置換されていることが好ましく、アラニン、グリシンへの置換がより好ましい。B鎖203グリシンは、アラニン、セリン、スレオニンのいずれかに置換されている事が好ましい。B鎖99のアスバラギン酸は、アスバラギンに置換されていることが好ましい。B鎖43のヒスチジンは、アラニンまたはセリンまたはアスバラギンに置換されていることが好ましい。

#### $[0\ 0\ 2\ 6\ ]$

なお、本明細書中において、B鎖205、B鎖203等は、B鎖の1番目のアミノ酸(例えば、配列番号2のアミノ酸番号50のイソロイシン)から数えたアミノ酸番号を示している。なお、上記のような置換アミノ酸の位置はアミノ酸の欠失、挿入、付加などによって位置が前後することがある。例えば、N末端部に1つのアミノ酸残基が挿入されれば本来205番目のセリン残基は206番目となるが、そのような205番目のセリン残基に相当するセリン残基も、本発明においては205番目のセリン残基と呼ぶこととする。

#### [0027]

B鎖の205番目のセリン、203番目のグリシン、43番目のヒスチジン、および99番目のアスバラギン酸のうち、置換される2つ以上のアミノ酸の組合せは特に制限されるものではないが、置換を受ける2つ以上のアミノ酸(置換部位)の組合せ、さらには、置換相手となるアミノ酸の種類により、基質結合能や抗血栓効果に違いが出ることがある。一例として、下記トロンビン誘導体1~5を挙げて説明する。

## [0028]

トロンビン誘導体1:置換部位がB鎖205番目のセリンと99番目のアスパラギン酸であり、セリンをアラニンに置換し、アスパラギン酸をアスパラギンに置換したトロンビン誘導体(配列番号22のアミノ酸番号44~351の配列)。

トロンビン誘導体2:置換部位がB鎖205番目のセリンと43番目のヒスチジンであり、セリンをアラニンに置換し、ヒスチジンをアラニンに置換したトロンビン誘導体(配列番号26のアミノ酸番号44~351の配列)。

トロンビン誘導体3: 置換部位がB鎖205番目のセリンと203番目のグリシンであり、セリンをグリシンに置換し、グリシンをアラニンに置換したトロンビン誘導体(配列番号8のアミノ酸番号44~351の配列)。

トロンビン誘導体4:置換部位がB鎖205番目のセリンと203番目のグリシンであり、セリンおよびグリシンをアラニンに置換したトロンビン誘導体(配列番号24のアミノ酸番号44~351の配列)。

トロンビン誘導体5:置換部位がB鎖205番目のセリン、203番目のグリシン、および99番目のアスパラギン酸であり、セリンおよびグリシンをアラニンに置換し、アスパラギン酸をアスパラギンに置換したトロンビン誘導体(配列番号14のアミノ酸番号44~351の配列)。

トロンビン誘導体6: 置換部位がB鎖205番目のセリン、43番目のヒスチジンであり、セリンをグリシンに置換し、ヒスチジンをアラニンに置換したトロンビン誘導体(配列番号34のアミノ酸番号44~351の配列)。

トロンビン誘導体7:置換部位がB鎖205番目のセリン、43番目のヒスチジンであり、セリンをアラニンに置換し、ヒスチジンをセリンに置換したトロンビン誘導体(配列番号36のアミノ酸番号44~351の配列)。

#### [0029]

トロンビン誘導体1~5は何れも、ヒルジンゲルへの結合能を保持していたが、トロンビン誘導体4および5は、野生型トロンビンに比べ、ヘバリンゲルへの結合能が低下していた。

#### [0030]

トロンビン誘導体 1 ~ 5 は何れもAPTT延長を主とした抗血栓効果を有するものであるが、その効果の序列は下記の通りであった。

「トロンビン誘導体2>トロンビン誘導体1、3>>トロンビン誘導体4、5」特に、トロンビン誘導体2は、後述のようなカルボキシル基修飾の有無に関わらず非常に高い抗血栓効果がみられた。また、トロンビン誘導体2にみられる抗血栓効果は、凝固カスケードに対し特異的に作用するものであり、特にAPTTを良く延長した。さらに、トロンビン誘導体2のカルボキシル基を修飾したトロンビン誘導体における抗血栓効果は、いずれも強い、凝固カスケード、血小板凝集、および血小板粘着抑制作用によってもたらされるものであった。

トロンビン誘導体2および4は、共に205番目のセリンをアラニンに置換したものであるが、前述のようにその抗血栓効果には大きな違いが見られた。トロンビン誘導体3および4も、共に203番目のグリシンをアラニンに置換したものであるが、やはりその抗血栓作用には前述のような違いが見られた。

トロンビン誘導体1,3はそのままではそれほど強い抗血栓性は有さないが、後述のような化学修飾によって基質特異性を変化させるか、又はアミノ酸(例えばB鎖77番目のリシン)を置換しフィブリノゲンへの親和性を特異的に低下させ、相対的に血液凝固第8因子に対する特異性を向上させる事によって、強いAPTT延長抑制効果又は血小板凝集抑制効果の一方又は両方を有するトロンビン誘導体が得られる。

一方、トロンビン誘導体4,5においてはカルボキシル基の化学修飾を行った場合でも、また77番目のリシンを置換し遺伝子工学的に特異性を変化させてもあまり強い抗血栓能は得られなかった。

## [0031]

以上より、トロンビン活性中心の置換によって得られるトロンビン誘導体は、以下の様に分類される。ただし、以下の分類はあくまでも一例であり、本発明のトロンビン誘導体はこの外の分類に分類されるトロンビン誘導体であってもよい。

- A)活性中心セリン及び活性中心ヒスチジンを同時に置換することによって得られる、カルボキシル基修飾及びフィブリノゲンへの親和性を低下させる分子表面のアミノ酸の置換無しで強いAPTT延長効果を主とした抗血栓能を有するタイプ。
- B) 活性中心セリン及び活性に関与する他のアミノ酸1つを同時に置換することによって得られるトロンビン誘導体であり、そのままではそれほど強い抗血栓能を持たないが、カルボキシル基修飾及び/又はフィブリノゲン親和性を低下させるアミノ酸の置換によって高い抗血栓能が現われるタイプ。
- () 活性中心セリンのみ/又は活性に関与する他のアミノ酸1つを同時に置換することによって得られるトロンビン誘導体でありカルボキシル基修飾及び/又はフィブリノゲン親和性を低下させるアミノ酸の置換によっても高い抗血栓能は現われないタイプ。
- D) 抗血栓能を有しているものも残存活性を有しているため、抗血栓剤としては使用できないタイプ。

A)のグループに関してフィブリノゲン、血液凝固8因子(FVIII)に対する基質特異性を確認したところ、活性中心のセリン、ヒスチジンを置換したグループはいずれも血液凝固8因子特異性が向上していることが分かった。よって高いAPTT延長効果は活性中心のアミノ酸の置換の組み合わせによって基質分解活性が喪失されるとともに血液凝固8因子特異性が向上(フィブリノゲン特異性が低下)したことに起因すると考えられる。本グループの誘導体は化学修飾無しに、そのフィブリノゲン親和性の低下により弱い抗血小板効果も確認された。また、その効果はPARI活性化抑制効果であり、リストセチン惹起血小板凝集抑制効果は有さなかった。

#### $[0\ 0\ 3\ 2\ ]$

本発明のトロンビン誘導体は、上記置換に加えて、さらに、ナトリウム結合部位が置換されたトロンビン誘導体であってもよい。ナトリウム結合部位とはBiochemistry 1992年、31巻、p11721-11730に開示された部位をいう。この中ではB鎖232又はB鎖234のアスパラギン酸(配列番号2の281又は283番目のアスパラギン酸に相当するアスパラギン酸)が好ましい。これらのアスパラギン酸は両方が置換されてもよい。また、これらのアスパラギン酸は、アラニンもしくはアスパラギンに置換されることが好ましい。

# [0033]

本発明のトロンビン誘導体は、上記置換に加えて、活性中心に関与するアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸のさらなる置換によってトロンボモジュリン及び/またはフィブリノゲンへの結合能を特異的に低下した誘導体であることが好ましい。ここで、活性中心のアミノ酸としては、B鎖の205番目のセリン、43番目のヒスチジン、および99番目のアスバラギン酸などが挙げられる。このような誘導体のトロンボモジュリン及び/またはフィブリノゲン結合能は野生型トロンビンの50%以下に低下していることが好ましい。トロンボモジュリン結合能を選択的に低下させることで、本発明のトロンビン誘導体が生体内に投与された場合にトロンボモジュリンに結合し、本来生体内で機能するべきトロンビンのプロテインC活性化を抑制することを防ぐことができる。このようなトロンビン誘導体は、少なくとも抗血液凝固カスケード又は抗血小板効果のいずれかを保持するものが好ましい。

トロンビンは、生体内ではトロンビンレセプター、血液凝固第8因子、トロンボモジュリン及びフィブリノゲンなどへの結合能を有しているが、上記トロンビン誘導体は、トロンビンレセプター又は血液凝固第8因子への結合能がフィブリノゲンへの結合能に比較して相対的にに高まる事で抗血栓効果が有意に高まったトロンビン誘導体、またはトロンビンレセプター又は血液凝固第8因子への結合能がトロンボモジュリンへの結合能に比較し相対的に高まったトロンビン誘導体であることが好ましい。なお、「相対的に高まった」とは、例えば、アミノ酸の置換により、置換前に比較し、誘導体の、トロンビンレセプター又は血液凝固第8因子に対する結合定数、又はIAsys等での結合容量と、トロンボモジュリンやフィブリノゲンに対する結合定数もしくは結合量の比が高まったことをいう。

## $[0\ 0\ 3\ 4\ ]$

トロンボモジュリン及び/またはフィブリノゲンへの結合能を特異的に低下させる置換は特に限定されるものではないが、B鎖77番目のリシン(B鎖77;配列番号2の126番目のリシンに相当するリシン)又はB鎖24番目のグルタミン(B鎖24;配列番号2の73番目のグルタミン)を他のアミノ酸に置換することが好ましい。B鎖77リシン及びB鎖24グルタミンを置換するアミノ酸は特に限定されるものではないが、アラニンまたはグルタミン酸であることが好ましい。

以下に例をあげると、

活性中心203グリシンをアラニンに活性中心205セリンをグリシンに置換したトロンビンは殆どAPTT延長効果を示さなかった。しかしながら、さらに本誘導体にB鎖77リシンのグルタミン酸への置換を組み合わせた誘導体(配列番号28のアミノ酸番号44~351の配列)は、血液凝固8因子特異性がフィブリノゲン特異性に対し相対的に向上し且つ高いAPTT延長効果を有した。

また、活性中心セリンをアラニンに、かつ活性中心ヒスチジンをアラニンに置換したトロンビンは高いAPTT延長効果を示した。この誘導体に同様にB鎖77リシンをグルタミン酸への置換の組み合わせを行うことでさらに、非常に強いAPTT延長抑制効果を有した(配列番号38のアミノ酸番号 $44\sim351$ の配列)。すなわち活性中心の置換による特異性の変化とさらに分子表面のアミノ酸置換による特異性の変化が相乗効果となって薬効の強さに影響する事がわかる。

また、活性中心セリンをアラニンに、かつヒスチジンをアラニンに置換し、さらにB鎖24番目のグルタミンをグルタミン酸に置換した誘導体(配列番号40のアミノ酸番号44~351の配列)は、APTT延長効果を有し且つ、TM(トロンボモジュリン)結合能が著しく低下していた。

このように活性中心のアミノ酸の置換に加えてトロンビン分子表面の各蛋白質への相互作用部位を置換することで種々の特徴を有したトロンビン誘導体が得られる。

本発明で得られるトロンビン誘導体はプロトロンビン体にて生体内に投与されることも可能である。その場合、血栓部位にて抗血栓効果を持ったトロンビンに活性化を受け、血栓 形成箇所にて抗血栓効果を発揮し、生体内にてより部位特異的な抗血栓効果が得られる。 本発明のトロンビン誘導体は、ヒルジンC末端ペプチドへの結合能が野生型トロンビンの1%以上であり、トロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下である限りにおいて、上述した置換されるアミノ酸以外のアミノ酸において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入、付加されたアミノ酸配列を有する誘導体であってもよい。なお、ここで数個とは、 $2\sim20$  個、好ましくは $2\sim10$  個、より好ましくは $2\sim5$  個を意味する。また、ヒルジンC末端ペプチドへの結合能が野生型トロンビンの1%以上、かつトロンビン基質分解活性が野生型トロンビンの100万分の1以下である限りにおいて、配列番号2のアミノ酸配列と全体として一定以上の相同性、すなわち、80%以上、好ましくは90%以上、特に好ましくは95%以上の相同性を有する範囲で改変されたものであってもよい。

## [0036]

上記のようなトロンビン誘導体は部位特異的変異導入法により各誘導体をコードするDN Aを作製し、該DNAを哺乳動物細胞などで発現させることによって得られる。このようなDN Aは上述したようにA鎖及びB鎖の両方をコードするものであってもよいし、各鎖をそれぞれ発現させてもよい。部位特異的変異導入法は特に限定されるものではないが、例えば、市販のQuikChange Site-Directed Mutagenesis Kit (ストラタジーン社製) などを用いて行っても良い。また、化学合成によってトロンビン誘導体を得ることもできる。

## [0037]

本発明のトロンビンはさらに、上記の誘導体のカルボキシル基が修飾されたものであってもよい。この場合、カルボキシル基がカルボジイミドによって修飾されたものが好ましい。カルボキシル基が修飾されることによって、フィブリノゲンに対する結合能が低下するため、トロンビンレセプターなどの基質に対する選択性が増し、より少量で抗血栓効果を達成することができる。トロンビン誘導体のカルボキシル基の修飾は、例えば、国際公開02/077031号バンフレットに記載の方法に基いて行うことができる。

## [0038]

また、上記誘導体をアミノ基を有する化合物を用いてカルボキシル基修飾してもよい。アミノ基を有する化合物は特に制限されないが、アミノ酸のエステル、側鎖にアミノ基を有するポリエチレングリコールなどが好ましい。アミノ酸のエステルとしてはグリシンエチルエステルなどが挙げられる。アミノ基を有する化合物を用いる修飾も国際公開 0 2 / 0 7 7 0 3 1 号パンフレットに記載の方法に基いて行うことができる。一方、上記誘導体をポリエチレングリコールと反応させることによって、カルボキシル基を修飾してもよい。なお、ポリエチレングリコールまたはアミノ基を有するポリエチレングリコールを用いる場合、ポリエチレングリコール部分の分子量は 1 0 0 0 以下であることが好ましい。

## [0039]

抗血栓効果を特異的に上げるためにトロンビン表面のアミノ酸の置換を行った場合に得られる効果、及びさらにカルボキシル基修飾を組合わせた場合に得られる効果は、置換するアミノ酸の組み合わせなどによって大きく異なり、疾患及び病態など応じて、目的に応じてアミノ酸置換のみを導入したトロンビン誘導体または化学修飾を組み合わせたトロンビン誘導体を用いることができる。

即ち、深部静脈血栓症等の静脈における血栓症においては血液凝固を抑制する薬が一般に用いられるため、各トロンビン誘導体及びそのカルボキシル基修飾体の中から高いAPTT 延長効果を持つトロンビン誘導体を用いることが望ましい。

一方、動脈系の血栓症においては血小板凝集を抑制する薬が一般に用いられるため、高い血小板凝集抑制効果を持ったトロンビン誘導体が望まれる。その中よりAPTT延長効果の異なるトロンビン誘導体は出血など副作用の状況等に応じて選択がなされるべきである。

#### [0040]

以下にトロンビン誘導体の活性中心のアミノ酸置換とそのカルボキシル基修飾との関係について一例を挙げて説明する。以下の説明は水溶性カルボジイミドを縮合剤として用い、且つ修飾をグリシンエチルエステルによって行い約15個のカルボキシル基が修飾された誘導体である。

修飾体1:B鎖205セリンをアラニンに、かつB鎖43ヒスチジンをアラニンに置換した誘導体は、カルボキシル基の修飾を行わずとも、非常に高いAPTT延長効果を有している。本配列のトロンビン誘導体はカルボキシル基修飾を行った場合APTT延長効果の増幅もある程度之られるが、それ以上にカルボキシル基修飾を行った本配列のトロンビン誘導体は血小板に対するリストセチン凝集抑制効果、カルボキシル基修飾トロンビン(Mートロンビン)凝集抑制効果が大きく高まり、結果、抗血液凝固、抗血小板能共に非常に高い効果をもった誘導体が得られた。

修飾体2:B鎖205セリンをグリシンに、B鎖203番目のグリシンをアラニンに置換した誘導体は、化学修飾前には APTT延長効果、抗血小板効果は弱いものであるが、カルボキシル基修飾を行うことで、APTT延長効果、抗血栓効果が高まり中程度のAPTT抑制効果と高い抗血小板効果を持ち合わせたトロンビン誘導体が得られた。

修飾体3:B鎖205セリンをアラニンに、B鎖203番目のグリシンをアラニンに置換したトロンビン誘導体はAPTT延長効果をほとんど示さなかった。このトロンビン誘導体のカルボキシル基を修飾した場合にもAPTT延長効果の増幅は顕著には見られなかった。

修飾体4:B鎖205セリンをグリシンに、B鎖203グリシンをアラニンに、B鎖77リシンをグルタミン酸に置換したトロンビン誘導体はAPTT延長効果を持つが、抗血小板効果は非常に弱いものである。このトロンビン誘導体のカルボキシル基修飾を行った場合にはAPTT延長効果のさらなる増加は殆ど見られないが、抗血小板効果は顕著に増幅された。

修飾体5:205セリンをアラニンに置換した誘導体は比較的弱いAPTT延長効果を持つが抗血小板効果は非常に弱いものであった。このトロンビン誘導体にカルボキシル基修飾を行った場合にはAPTT延長効果の大幅な増幅は見られないが、抗血小板効果は顕著に増幅された。

## $[0\ 0\ 4\ 1]$

即ち前述の第一段階での遺伝子工学的に得られるトロンビン誘導体の中から、A)活性中心におけるアミノ酸の置換の組み合わせにより抗血栓性の増したタイプ、B)さらなるアミノ酸の置換により、フィブリノゲンへの親和性を低下させて基質特異性を変化することによって抗血栓性が増したタイプ、C)さらなるアミノ酸の置換によってA)B)のトロンビン誘導体のトロンボモジュリン親和性が低下したタイプ、D) A)B)C)それぞれのトロンビン誘導体のカルボキシル基を修飾した種々の抗血栓効果を持ったタイプのトロンビン誘導体を選択することができる。

## [0042]

本発明の各種トロンビン誘導体は、目的によって使い分ける事が可能である。例えば、トロンビン誘導体2は静脈内におけるフィブリン血栓(赤色血栓)に対し効果的である事が予測され、トロンビン誘導体2のカルボキシル基修飾体は、動脈内の血小板血栓(白色血栓)に対しても効果的である事が予想される。

あるいは化学修飾を行わない前述の活性中心セリンがアラニンに、活性中心ヒスチジンがアラニンに、かつB鎖77リシンがグルタミン酸に置換されたトロンビンも静脈内血栓に関しては有効と考えられる。

又、動脈内での血小板血栓においてもその疾患において出血が問題になる場合には、トロンビン誘導体2のカルボキシル基修飾体よりもAPTT延長効果の低いトロンビン誘導体3のカルボキシル基修飾体の方が望ましい。これらは疾患の患者に対するリスクと出血のリスクを考慮して選択することができる。

上記に記載されるヘバリン結合能の低下に関して、そのヘバリン結合能の低下がヘバリン結合領域(エクソサイト日等)以外の領域、例えば低下活性中心やエクソサイト日等のアミノ酸の置換によって引き起こされる場合、その置換によってトロンビン変異体全体の分子構造に歪む等の悪影響が与えられ、ヘバリン結合能が低下したと推察される。実際に生体内に投与する場合、活性中心を本発明で開示されるような最適な組み合わせで変異させた上で、目的に応じ、さらなる組換え体として積極的にエクソサイト目に位置す

るアミノ酸(例えばB鎖98番目のアルギニン、B鎖245番目アルギニン、B鎖248番目リジンをアラニン等の他のアミノ酸)に置換する事によってヘバリン親和性を低下させ

たトロンビン誘導体を得ることも可能である。

## [0043]

なお、カルボキシル基修飾を行う場合、カルボキシル基修飾によって付加される効果は その修飾個数によっても大きく影響を受ける。

トロンビンのカルボキシル基修飾による上記各誘導体が修飾体1から5に記載される所望の効果を得るためには3個以上のカルボキシル基が修飾される事が望ましい。3個以下では前記カルボキシル基修飾によって付加される効果は著しく低下する。同様にカルボキシル基修飾は25個以下であることが望ましい。25個を超えた場合にも前記カルボキシル基修飾による効果は著しく低下すると共に 修飾による回収率の著しい低下が起こる。但しトロンビン誘導体表面にアミノ酸置換によってカルボキシル基を導入、削除して得られるトロンビン誘導体に関しては、その置換によるカルボキシル基の増加、減少は除いて考える。

さらに修飾個数によって多様な効果を持った誘導体が得られる。例えば前述の修飾体1)の修飾個数を8又は5個と減らす事で非常に高いAPTT延長効果と中から低度の抗血小板効果を持った誘導体が得られる。

カルボキシル基を修飾する場合、少なくともB鎖25番目のグルタミン酸のカルボキシル基が修飾されたものであることが好ましい。本発明のカルボキシル基が修飾されたトロンビン誘導体は、血小板のリストセチン凝集抑制能が向上された誘導体及び/または血小板のGPIb  $\alpha$  拮抗能を有する誘導体であることが好ましい。

## [0044]

本発明はまた、上述したようなトロンビン誘導体をコードするDNAを提供する。このようなDNAとしては、例えば、配列番号 7、13、21、23、25、27、33、35、37 または 39 の塩基番号 130~1056の塩基配列を含むDNAなどを例示することができる。また、上述したようなトロンビン誘導体をコードする限りにおいて、配列番号 7 の塩基番号 130~1056の塩基配列を含むDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするものであってもよい。ここで、ストリンジェントな条件としては、例えば、通常のサザンハイブリダイゼーションの洗いの条件である 60  $\mathbb C$  、 $1\times SSC$  0.1%SD S、好ましくは  $0.1\times SSC$  0.1%SD S に相当する塩濃度で、1回より好ましくは 2 2 3 回洗浄する条件が挙げられる。

#### $[0 \ 0 \ 4 \ 5]$

本発明のトロンビン誘導体は抗血栓作用を有している。この作用は、例えば、実施例に示すような血漿の部分活性化トロンボプラスチン時間(APTT)測定や全血凝固時間測定、血小板凝集能抑制効果によって確認することができる。

本発明のトロンビン誘導体を製剤学的に許容される製剤担体と組合わせることにより、医薬組成物として使用することができる。ここで、医薬組成物として好ましくは、抗血栓治療薬、抗炎症剤、血小板凝集抑制剤、血小板粘着抑制剤、血小板GPIb拮抗剤、トロンビンレセプター活性化抑制剤などを挙げることができる。上記製剤担体は製剤学的に許容されるものであれば特に制限されないが、通常の薬剤に汎用される注射剤用溶剤、安定剤、希釈剤、界面活性剤等を使用できる。本発明の医薬組成物の投与単位形態は特に限定されず、治療目的に応じて適宜選択できる。例えば、注射剤等を例示できる。本発明の医薬組成物の投与量は、症状などに応じて適宜選択される。

#### 【実施例】

## [0046]

以下実施例により本発明を更に詳しく説明するが、本発明はその趣旨を超えない限り、この実施例の範囲には限定されない。

#### $[0\ 0\ 4\ 7]$

<1>トロンビン基質分解活性の測定

方法A:合成基質S2238(シグマ社)を基質とし、50mMトリス塩酸(pH8)、37 $^{\circ}$ における405nmの吸光度の増加による測定を行った。

被験サンプル(ヒト野生型トロンビンまたはトロンビン誘導体)の50mM トリス塩

酸 0.1M NaCl溶液(pH7.4)、ヒト野生型トロンビンの場合の濃度は $1 \mu g/ml$ 、トロンビン誘導体の場合の濃度は $2 0 0 \mu g/ml$ )と、合成基質S 2 2 3 8 0 5 0 m M トリス塩酸 0.1M NaCl溶液(pH7.4)を、 $2 0 0 \mu l$  ずつエッペンチューブに加え、37  $\mathbb C$  、1 2 時間 インキュベーションした。反応停止は50 % 酢酸  $2 0 0 \mu l$  を添加して行った。

なお、合成基質 S 2 2 3 8 の 5 0 m M トリス塩酸 0.1M NaCl 溶液(pH7.4)と、5 0 m M トリス塩酸 0.1M NaCl (pH7.4)を、2 0 0  $\mu$  l ずつエッペンチューブに加え、37  $\mathbb{C}$ 、1 2 時間 インキュベーションしたものをコントロールとした。

12時間インキュベーションした後のコントロールの吸光度は、インキュベーション前に比べて0.005増加した。被験サンプルの12時間インキュベーション終了後の吸光度の増加が、インキュベーション前の吸光度に比べて0.05以下の場合は測定限界以下であると判定した。

方法Aにおいて活性が認められないレベルに活性が低下したトロンビンに関しては、さらに以下の方法B又は(又はDいずれかの活性測定を行った。

## [0048]

方法B:血液凝固XIII因子としてフィブロガミンP(アベンティス ファーマ)を用いた。  $3\,m\,1$  のフィブロガミンP 250単位を50 $m\,M$  EDTA、0.1M NaCl(pH7.4)に透析した溶液 $50\,\mu\,1$ に対し、被験サンプル $0.1m\,g/ml$ (トロンビン誘導体)のPBS溶液(pH7.4) $100\,\mu\,1$ をエッペンチューブに加え、 $37\,C$ 、3時間インキュベーションした後、SDS-PAGEによって血液凝固XIII因子の活性化の有無を確認した。目視で分解産物が確認される場合にSDSPAGEを-SH条件下で行いXIII因子のA鎖及び活性化A鎖のバンドの濃さをライトキャプチャー(アトー株式会社)を用い解析比較した。

## [0049]

方法  $C: 50\,\text{mM}$  トリス塩酸  $0.1\,\text{M}$  Na CI ( pH7.4) に溶解した  $4\,\text{m}$  g/m 1 フィブリノゲン溶液  $2\,0\,0\,\mu$  1 に、 $0.2\,\text{m}$ g/m Iに調整された被験サンプル(トロンビン誘導体)を  $1\,0\,0\,\mu$  1 添加し良く混和したのち、 $37\,\text{C}$ 、3時間のインキュベーションを行った。3時間後のクロット形成の有無を目視によって判断した。

## [0050]

方法D:  $50\,\text{mM}$  トリス塩酸  $0.1\,\text{M}$  NaCl pH7.4に溶解した $0.1\,\text{mg/ml}$  トロンビンレセプター細胞外ドメインペプチド(配列番号 4 )溶液  $200\,\mu$  1 に、 $0.3\,\text{mg/ml}$  に調整された被験サンプル(トロンビン誘導体)を $100\,\mu$  1 添加し 良く混和したのち、 $37\,\text{C}$  3時間のインキュベーションを行った。 $50\,\text{M}$  me  $200\,\mu$  l を添加して反応を停止した後、SDS-PAGEによってトロンビンレセプターの活性化の有無を確認した。目視で分解産物が確認される場合にSDSPAGEを-SH条件下で行いトロンビンレセプターの分解産物のバンドの濃さをライトキャプチャー(アトー株式会社)を用い解析比較した。

## $[0\ 0\ 5\ 1]$

< 2 > 基質結合能の測定法

方法E:ヒルジンC末端ペプチド(配列番号3)への結合性の確認

(1)ヒルジン(末端ペプチドゲルの作製

ヒルジン(末端ペプチド1 0  $\mathbf{m}$   $\mathbf{g}$   $\mathbf{e}$   $\emptyset$ . 1  $\mathbf{M}$   $\mathbf{N}$   $\mathbf{a}$   $\mathbf{H}$   $\mathbf{c}$   $\mathbf{0}$   $\mathbf{g}$   $\mathbf{g}$   $\mathbf{g}$   $\mathbf{g}$   $\mathbf{e}$   $\mathbf{m}$   $\mathbf{e}$   $\mathbf{g}$   $\mathbf{e}$   $\mathbf{e}$   $\mathbf{e}$   $\mathbf{g}$   $\mathbf{e}$   $\mathbf{e$ 

誘導体は基質結合能を喪失していると判断した。

[0052]

方法F:バイオセンサー(IAsys日製産業)を用いたトロンビン誘導体のトロンビンレセプター結合能の測定

(1)トロンビン誘導体固定化キュベットの作製

被験サンプル(トロンビン誘導体)  $10\,\mathrm{mM}$  リン酸バッファー( $\mathrm{pH7.7}$ )を、NHS活性化 $\mathrm{CM}$ デキストランキュベット(日製産業社) $10\,\mathrm{分間}$   $25\,\mathrm{C}$ で撹拌することにより、被験サンプル(トロンビン誘導体)をNHS活性化 $\mathrm{CM}$ デキストランキュベットに固定し、トロンビン誘導体固定化キュベットを得た。引き続き  $1\,\mathrm{M}$  エタノールアミン( $\mathrm{pH8}$ )を $0.2\,\mathrm{mlm}$  えブロッキング処理を行った。

(2)約1000、500、200、100、50、25、10nMに調整した トロンビンレセプター細胞外ドメインペプチド(配列番号 4)の50mM リン酸緩衝液 0.15M NaCl 溶液(pH7.4)0.1m lを、(1)で得られたトロンビン誘導体固定化キュベットに加え結合曲線を解析した。解析はFAST fit(日製産業)を用い同社マニュアルに順じて行った。

[0053]

<3>APTT測定方法

本実施例において方法に関し特に指定が無い限り、APTTの測定は下記の方法にて行った

標準血漿(国際試薬社)とサンプルを混和し、総量の25%のAPTT試薬(国際試薬社)を加え37% 5分インキュベーションを行う。<math>5分後 0.1M  $CaCl_2を<math>8\mu$ Mになるように添加しカルシウム添加後 凝固までの時間を測定する。

 $[0\ 0\ 5\ 4]$ 

[実験例1]

(1)ヒト野生型トロンビンの発現

[0055]

(2)ヒト野生型トロンビンのエカリンによる活性化及び活性化ヒト野生型トロンビンの ヒルジン(末端ペプチドカラム結合性の確認

[0056]

(3)ヒト野生型トロンビンの精製

次にヒルジン ( 末端結合実験に使用した残りのエカリン活性化後のトロンビンを含む溶液  $9.8\,\mathrm{m}$   $1.6\,\mathrm{c}$ 、 $5.0\,\mathrm{m}$  M トリス塩酸緩衝液、 $0.1\,\mathrm{M}$  NaCl  $(\mathrm{pH8})$  で平衡化した硫酸化セルロファインカラム ( チッソ社)  $2.0\,\mathrm{O}$  m 1 に添加し、同緩衝液  $2.0\,\mathrm{O}$  m 1 で同カラムを洗浄した後、 $5.0\,\mathrm{m}$  M トリス塩酸緩衝液、 $1\,\mathrm{M}$  NaCl  $(\mathrm{pH8})$  にで溶出した。 さらに溶出液を $5.0\,\mathrm{m}$  M トリス塩酸緩衝液、 $0.1\,\mathrm{M}$  NaCl  $(\mathrm{pH8})$  に透析し 同緩衝液で平衡化されたヒルジン ( 末端ペプチドカラム ( ヒルジン ( 末端ペプチドを  $2.0\,\mathrm{O}$  m  $\,\mathrm{g}$  、 NHS活性化セルロファイン ( チッソ社) を  $3.0\,\mathrm{m}$  1 とした以外は、前述の「方法( :ヒルジン、( 1 ) ヒル

ジン (末端ペプチドゲルの作製」に記載の方法に準じて作製した)  $30\,\mathrm{m}\,1$  に添加した。  $50\,\mathrm{m}\,\mathrm{M}\,$  トリス塩酸緩衝液  $150\,\mathrm{m}\,\mathrm{I}\,$  で該ヒルジン (末端ペプチドカラムを洗浄した後、  $50\,\mathrm{m}\,\mathrm{M}\,$  トリス塩酸緩衝液、  $1\,\mathrm{M}\,$  NaCl  $1\,\mathrm{M}\,$  グアニジン塩酸  $(\,\mathrm{pH}8)$  にて溶出し、SDS-PAGE 上ほぼ純化されたヒルジン結合性のヒト野生型トロンビン 約 $5\,\mathrm{m}\,\mathrm{g}\,$ を得た。

## [0057]

## [実験例2]

(1)B鎖203グリシンをアラニンにB鎖205セリンをグリシンに置換したトロンビン(以下203A205Gトロンビン)の発現

203A205GトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。 203A205Gトロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号7に示す。

203A205Gトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じて硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上でほぼ純化された203A205Gトロンビンが約5mg得られた。

## [0058]

- (2) 203A 205Gトロンビンの基質分解活性測定
- (1)で得られた203A205Gトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、インキュベーション後の吸光度の有意な増加はみられなかった。

さらに、203A205Gトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、XIII因子のA鎖活性化産物のバンドは確認されなかった。さらに、203A205Gトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Gに従って測定した結果、クロット形成は確認されなかった。

## [0059]

- (3) 203A205Gトロンビンのトロンビンレセプターへの結合能の確認
- (1)で得られた203A205Gトロンビンのトロンビンレセプターへの結合能を、前述の方法Fに従って測定した。203A205Gトロンビンのトロンビンレセプターの解離定数は $3.2\mu$  Mであった。

#### [0060]

(4) 203A205Gトロンビンの活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の測定

 $50\,\mu$  g/mlの 203 A 205 G トロンビン(PBS;  $137\,m$ M NaCl,  $2.68\,m$ M KCl,  $8.1\,m$ M Na  $_2$  HPO 4,  $1.47\,m$ M KH  $_2$  PO  $_4$ (pH7.4)を  $100\,\mu$  l を標準血漿(国際試薬社)  $100\,\mu$  l と混合し、APTTを測定した。 PBSの みを同様に添加した標準血漿をコントロールとして測定したところ、コントロールが 44 秒、 203 A 205 G トロンビンでは 48 秒であった。

#### $[0\ 0\ 6\ 1]$

(5) PRP(多血小板血漿: platelet rich plasma) を用いた203A205Gトロンビンの抗血小板機能の評価

評価1:採血直後のクエン酸添加全血 $10\,\text{ml}$ を、 $800\,\text{rpm}$ で15分遠心し、上澄みよりPRP $2\,\text{ml}$ を得た。さらに $2500\,\text{rpm}$ で10分遠心分離することによりPPP(乏血小板血漿:p1atelet poo r  $p1asma)を得た。<math>100\,\mu$  1 添加した場合に $203\,\text{A}\,205\,\text{G}$ トロンビンの終濃度が $80\,\mu$  g m 1 となるように濃度が調整された、 $203\,\text{A}\,205\,\text{G}$ トロンビンの $5\,\text{mM}$  リン酸緩衝液  $0.15\,\text{M}$  NaCl (pH7.4) 溶液 $100\,\mu$  1 をPRP $130\,\mu$  1 に添加し、血小板凝集惹起物質として $5\,\text{m}$  g/ml リストセチン $5\,\text{m}$  M リン酸緩衝液  $0.15\,\text{M}$  NaCl (pH7.4) 溶液 $35\,\mu$  1 を添加した。コントロールとして、 $PRP130\,\mu$  1 に、 $5\,\text{m}$  M リン酸緩衝液  $0.15\,\text{M}$  NaCl 、pH7.4 1  $00\,\mu$  1 を添加し透過率の経時変化を記録した。なお、透過率(波長 $700\,\text{n}$  m)の測定はEASY TRACER ET-800 (東京光電株式会社)を用いて行った。結果を図11 に示す。なお、縦軸の透過率は血小板凝集能と正の相関を示す値である。

評価 2 :血小板凝集惹起物質として $1\mu$  g/mlカルボキシル基修飾トロンビン(ヒト野生型) 5 mM リン酸緩衝液 0.15 M NaCl (pH7.4) 溶液を用いた以外は、評価(1 )の方法に準じて実験を行った。コントロールとして、PRP130  $\mu$  1 に、5 mM リン酸緩衝液

 $0.15 \, M$  NaCl (pH7.4)  $100 \, \mu$  l を添加し透過率の経時変化を記録した。なお、透過率の測定はEASY TRACER ET-800 (東京光電株式会社)を用いて行った。結果を図12に示す

(6) 203A205Gトロンビンのフィブリノゲン及びFVIIIへの結合特異性の比較

203A205Gキュベットまたはアンヒドロトロンビンキュベットにそれぞれ100nMのフィブリノゲン及びFVIII (第8因子)を添加しそれぞれの結合曲線をモニターした。結果を図13と図14に示す。

図14よりアンヒドロトロンビンキュベットにはフィブリノゲンとFVIIIがほぼ同程度結合しているのに対し、図13より203A205GキュベットにはFVIIIの方がフィブリノゲンより少ない結合が確認された。構造変化を最小にするため単純に活性中心セリンをデヒドロアラニンに変換する事で得られたアンヒドロトロンビンに比較し、203A205Gトロンビンは低いFVIII特異性を有している事が分かった。そのため203A205GトロンビンはAPTT延長効果が低いものと考えられた。

## $[0\ 0\ 6\ 2]$

(7) カルボキシル基修飾203A205Gトロンビンの活性化部分トロンボプラスチン時間(APT))及びプロトロンビン時間(PT)の測定

1 mg/5 ml の 203 A 205 G F ロンビン/50 mM リン酸緩衝液 0.5 M NaCl (pH6.5) を 0.25 M グリシンエチルエステル 0.5 M NaCl (pH6.5) に 4 C で 3 時間透析した後、 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide (和光純薬)を、その濃度が <math>20 mg/mlになるように添加し、 25 C にて 1 時間 インキュベーションし、 203 A 205 G F ロンビンのカルボキシル基を修飾した。質量分析の結果分子量約 1400 M 増加しており約 15 M のカルボキシル基が修飾されていた。

#### [0063]

評価 1 : APTT測定 1

修飾された203A2056トロンビン $500\mu$ gを、5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl (pH7.4) 1 m 1 に溶解したもの $50\mu$ lを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:10の割合となるように添加し、APTTを測定した。5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl (pH7.4) を、標準血漿(国際試薬社)に1:10 (容量比)となるように添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは38秒であったのに対し、カルボキシル基修飾203A2056トロンビンのAPTTは65秒であった。

評価2:APTT測定2

修飾された203A205Gトロンビン $50\mu$ gを、1m1のPBSに溶解したもの $100\mu$ lを、標準血漿(国際試薬社) $100\mu$ lに添加し、APTTを測定した。PBSを標準血漿(国際試薬社)に同様に添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは44秒であったのに対し、カルボキシル基修飾203A205GトロンビンのAPTTは85秒であった。

#### $[0\ 0\ 6\ 4]$

評価3:PTの測定

修飾された203A205Gトロンビン500μgを、5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl (pH7.4) 1 m 1 に溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:10の割合となるように添加し、PTを測定した。5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl (pH7.4) を、標準血漿(国際試薬社 )に1:10(容量比)となるように添加したものをコントロールとし、PTを測定した。なお、PT試薬にはSIGMA社のTHROMBOPLASTIN WITH CALSIUMを使用した。その結果、コントロールのPTは20秒であったのに対しカルボキシル基修飾203A205GトロンビンのPTは21秒であった。

## [0065]

(8) PRP (多血小板血漿:platelet rich plasma) を用いたカルボキシル基修飾203A2 05Gトロンビンの抗血小板機能の評価

評価1:採血直後のクエン酸添加全血 $10\,\mathrm{ml}$ を、 $800\,\mathrm{rpm}$ で15分遠心し、上澄みより $\mathrm{PRP}\,\mathrm{2ml}$ を得た。さらに $2800\,\mathrm{rpm}$ で10分遠心分離することにより $\mathrm{PPP}$ (乏血小板血漿: $\mathrm{platelet}$   $\mathrm{poo}$   $\mathrm{r}$   $\mathrm{plasma}$ )を得た。 $100\,\mu$  1 添加した場合にカルボキシル基修飾 $203\,\mathrm{A}\,205\,\mathrm{G}\,\mathrm{F}$  口ンビンの終濃度が $37\,\mu$   $\mathrm{g/m}\,\mathrm{1}$  となるように濃度が調整された、カルボキシル基修飾 $203\,\mathrm{A}\,205\,\mathrm{G}\,\mathrm{F}$  ロンビンの $5\,\mathrm{mM}$  リン酸緩衝液  $0.15\,\mathrm{M}$  Na $\mathrm{Cl}$  ( $\mathrm{pH7}.4$ ) 溶液  $100\,\mu$  1 を  $\mathrm{PRP}\,\mathrm{I}\,30\,\mu$  1 に添加し、血小板凝集惹起物質として  $5\,\mathrm{mg}\,\mathrm{/ml}$  リストセチン $5\,\mathrm{mM}$  リン酸緩衝液  $0.15\,\mathrm{M}$  Na $\mathrm{Cl}$  ( $\mathrm{pH7}.4$ ) 溶液  $35\,\mu$  1 を添加した。コントロールとして、 $\mathrm{PRP}\,\mathrm{I}\,30\,\mu$  1 に、 $5\,\mathrm{mM}$  リン酸緩衝液  $0.15\,\mathrm{M}$  Na $\mathrm{Cl}$  ( $\mathrm{pH7}.4$ )  $100\,\mu$  1 を添加し透過率の経時変化を記録した。なお、透過率(波長  $700\,\mathrm{mm}$ )の測定は $\mathrm{EASY}\,\mathrm{TR}\,\mathrm{ACER}\,\mathrm{ET}-800$  (東京光電株式会社)を用いて行った。結果を図 1 に示す。なお、縦軸の透過率は血小板凝集能と正の相関を示す値である。

評価 2:血小板凝集惹起物質として $1\mu$  g/mlカルボキシル基修飾トロンビン(ヒト野生型)5 mM リン酸緩衝液 0.15M NaCl (pH7.4) 溶液を用いた以外は、評価 1 の方法に準じて実験を行った。コントロールとして、PRP130  $\mu$  1 に、5 mM リン酸緩衝液 0.15M NaCl (pH7.4)  $100\mu$  1 を添加し透過率の経時変化を記録した。なお、透過率の測定はEASY TRACER ET-800 (東京光電株式会社)を用いて行った。結果を図 2 に示す。

図1、図2より、カルボキシル基修飾203A205Gトロンビンを用いることによって血小板凝集が低下したことから、該トロンビン誘導体は抗血小板効果を示すことがわかった。

## [0066]

以上の結果から、203A2056トロンビンは、活性が検出限界以下に低下しているが、基質への結合能は保持していることがわかった。また、APTTの結果および血小板凝集抑制実験の結果から、203A2056トロンビンは $80\mu$  g/mlにおいては抗血栓効果、抗血小板効果を有していなかったが、約15個のカルボキシル基が修飾を受けたカルボキシル基修飾203A2056トロンビンはより低濃度においても十分な抗血栓効果、抗血小板効果を有していることがわかった。

また、IAsysを用いた基質特異性実験より203A205GトロンビンはFVIII特異性が低いため高いAPTT延長効果が無いことが推測される。化学修飾を行った203A205Gトロンビンは後の実験で示す205A43Aトロンビン同等のAPTT延長効果であったが、血小板凝集抑制効果においては205A43Aトロンビンに比較し非常に強い効果を示した。化学修飾を行った205A43Aトロンビンと比較した場合、化学修飾を行った203A205G トロンビンはAPTT延長効果は弱いものも血小板凝集抑制効果は同等に強い性質を示した。

## [0067]

- (9) 203A205Gトロンビンのカルボキシル基修飾個数と抗血栓性の関係の評価
- (9)-1.修飾個数1から10個のカルボキシル基修飾203A205G誘導体の作製

1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide (和光純薬)を終濃度  $2 \text{ mg} \sim 2 \text{ 0mg}$  gになるように加え 2 5  $\mathbb{C}$  にて 6 0 分~120 分インキュベーションを行い、203 A 205 Gトロンビンの 2 個~28 個のカルボキシル基を修飾した修飾誘導体  $1 \sim 5$  を得た。

#### [0068]

(9) −2. PBSに透析した修飾誘導体1~5のAPTT延長効果

修飾された203A205Gトロンビン50  $\mu$  gを、1 m 1 のPBSに溶解したもの100  $\mu$  lを、標準血漿(国際試薬社)1 0 0  $\mu$  lに添加し、APTTを測定した。PBSを標準血漿(国際試薬社)に同様に添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。

結果を以下に示す。 203A205Gトロンビン

約0個修飾 APTT 47秒

約1個修飾

203A205Gトロンビン修飾誘導体1

APTT 48秒

203A205Gトロンビン修飾誘導体2

約3個修飾 APTT 56秒

203A205Gトロンビン修飾誘導体3

約5個修飾 APTT 6 1 秒

203A205Gトロンビン修飾誘導体4

77秒 APTT

203A205Gトロンビン修飾誘導体5

約10個修飾 約26個修飾 APTT - 6 0 秒

以上よりEDCを用いた203A205Gトロンビンにおいて3個以上のカルボキシル基修飾によ って顕著なAPTT延長効果が確認された。修飾体1~4における修飾前後における回収率は 75%以上であった。26個修飾された誘導体においてはAPTT延長効果は見られるものの 、凝集がおき、回収率が40%と低く過度な修飾による回収率の低下が起こることが分か った。

## [0069]

## [実験例3]

(1)B鎖205セリンをアラニンに置換したトロンビン(以下205Aトロンビン)の発現 205AトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。2 05Aトロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号9に示す。

205Aトロンビンを実験例1の(1)の方法に準じて発現させた。実験例1の(2)の方 法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確 認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3 )の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジン C 末端ペプチドカラムによる精製を行 った。SDS-PAGE上 ほぼ純化された205Aトロンビンが約6 m g得られた。

## [0070]

(2) 205Aトロンビンの基質分解活性測定

(1)で得られた205Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を前述の方法Bに従って測 定した結果、活性化されたXIIIのA鎖は確認されなかった。

## $[0 \ 0 \ 7 \ 1]$

(3) 205Aトロンビンの活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の測定

205Aトロンビン500μgを、PBS 1 m 1 に溶解した溶液100μ 1 を、標準血漿(国際試 薬社)に容量比で1:1の割合となるように添加し、APTTを測定した。PBSを、標準血漿 (国際試薬社)に1:1で添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、AP TT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは55秒であった のに対し、205AトロンビンのAPTTは95秒であった。

205Aトロンビン50μgを、PBS 1 m l に溶解した溶液100μ l を、標準血漿(国際試薬 社)に容量比で1:1の割合となるように添加し、APTTを測定した。PBSを、標準血漿( 国際試薬社)に1:1で添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT 試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは41秒であった のに対し、205AトロンビンのAPTTは62秒であった。

# $[0 \ 0 \ 7 \ 2]$

さらに、1mg/5mlの205Aトロンビン/50mMリン酸緩衝液 0.5M NaCl(pH6.5)を0.2 5M グリシンエチルエステル 0.5M NaCl (pH6.5) に4℃で3時間透析した後 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide(和光純薬)を、その濃度が20mg/mlになるように 添加し、25℃にて1時間インキュベーションし、205Aトロンビンのカルボキシル基を修 飾した。

カルボキシル基修飾205Aトロンビン $50\mu$ gを、PBS 1m1に溶解した溶液 $100\mu$ 1を、 標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1の割合となるように添加し、APTTを測定した。 PBSを、標準血漿(国際試薬社)に1:1で添加したものをコントロールとし、APTTを測 定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAP TTは40秒であったのに対し、カルボキシル基修飾205AトロンビンのAPTTは63秒であっ た。

## [0073]

(5) PRP (多血小板血漿: platelet rich plasma) を用いた205Aトロンビンの抗血小板機能の評価

評価 2 : 血小板凝集惹起物質として  $1\mu$  g/mlカルボキシル基修飾トロンビン(ヒト野生型) 5 mM リン酸緩衝液 0.15M NaCl (pH7.4) 溶液を用いた以外は、評価(1)の方法に準じて実験を行った。コントロールとして、PRP130  $\mu$  1 に、5 mM リン酸緩衝液 0.15M NaCl (pH7.4)  $100\mu$  1 を添加し透過率の経時変化を記録した。なお、透過率の測定はEASY TRACER ET-800 (東京光電株式会社)を用いて行った。しかしながら本実験で70  $\mu$  g/mlにおいては血小板凝集抑制効果は確認されなかった。

以上より、205Aトロンビンは弱いAPTT延長効果が確認された。しかしながら抗血小板効果は確認されなかった。

#### $[0\ 0\ 7\ 4]$

## [実験例4]

(1) B鎖205セリンをスレオニンに置換したトロンビン(以下205Tトロンビン)の発現205TトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。205Tトロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号11に示す。

205Tトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現させた。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じて硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上 ほぼ純化された205Tトロンビンが約5mg得られた。

#### [0075]

- (2)205Tトロンビンの基質分解活性測定
- (1)で得られた205Tトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、205Tトロンビンの基質分解活性は、ヒト野生型トロンビンに比較し約 $2.5 \times 10^{-4}$ の活性であった。

さらにトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、ほぼ全てのFXIIIのA鎖は野生型トロンビン同様の活性化を受け、分解された活性化血液凝固XIII因子のバンドが確認された。以上より、205Tトロンビンは活性が残存していることがわかった。

## [0076]

#### [実験例5]

(1) B鎖203グリシンをアラニンにB鎖205セリンをアラニンにB鎖99アスパラギン酸をアスパラギンに置換したトロンビン(203A205A99Nトロンビン)の発現

203A205A99NトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。203A205A99Nトロンビン塩基配列を配列番号13に示す。

203A205A99Nトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行

った。SDS-РАСЕ上ほぼ純化された203A205A99Nトロンビンが約5mg得られた。

 $[0 \ 0 \ 7 \ 7]$ 

- (2) 203A205A99Nトロンビンの基質分解活性測定
- (1)で得られた203A205A99Nトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、インキュベーション後の吸光度の増加はみられなかった。

さらに、203A205A99Nトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、XIII因子のA鎖活性化産物のバンドは確認されなかった。

[0078]

(3) 203A205A99Nトロンビン添加血液のAPTTの測定

203A205A99Nトロンビン $100\mu$ gを5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl (pH7.4) 1 m 1 に溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1 の割合となるように添加し、APTTを測定した。5mM PIPES緩衝液 0.15M NaCl (pH7.4) を、標準血漿(国際試薬社)に容量比1:1 の割合となるように添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは55 秒であったのに対し、203A205A99NトロンビンのAPTTは60 秒であった。以上より、203A205A99Nトロンビンはヒルジンゲルへの結合能を有し且つ、活性が十分に低下しているものも十分な抗血栓効果を有していないことがわかった。

[0079]

[実験例6]

(1) B鎖205セリンをバリンに置換したトロンビン(以下205Vトロンビン)の発現

205VトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。205Vトロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号15に示す。

205Vトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にほぼすべてのトロンビンのバンドが現われ、溶出ピークにはトロンビンのバンドが確認されなかった。これにより、205Vトロンビンは基質結合能が低下していることがわかった。

[0080]

[実験例7]

(1) B鎖205セリンをアスバラギン酸に置換したトロンビン(以下205Dトロンビン)の発現

205Dトロンビンの DNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。 205Dトロンビン塩基配列を配列番号 1.7に示す。

205Dトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にほぼすべてのトロンビンのバンドが現われ、溶出ピークにはトロンビンのバンドが確認されなかった。これにより、205Dトロンビンは基質結合能が低下していることがわかった。

[0081]

[実験例8]

(1) B鎖205セリンをアスバラギンに置換したトロンビン(以下205Nトロンビン)の発現205NトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。205Nトロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号19に示す。

205Nトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にほぼすべてのトロンビンのバンドが現われ、溶出ピークにはトロンビンのバンドが確認されなかった。これにより、205Nトロンビンは基質結合能が低下していることがわかった。

[0082]

[実験例9]

国際公開第01/03740号パンフレットの実験例1記載のアンヒドロトロンビンのトロンビンレセプター結合能の測定を、方法Dにより測定したところ、該アンヒドロトロンビンとトロンビンレセプターの解離定数は $1.2\mu$  Mであった。

## [0083]

[実験例10]

(1) B鎖205セリンをアラニンにB鎖99アスパラギン酸をアスパラギンに置換したトロンビン (205A99Nトロンビン) の発現

205A99NトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した

205A99Nトロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号21に示す。

205A99Nトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上ほぼ純化された205A99Nトロンビンが約5.5mg 得られた。

[0084]

(2) 205A99Nトロンビンの基質分解活性測定

(1)で得られた205A99Nトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、インキュベーション後の吸光度の増加はみられなかった。

さらに、205A99Nトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、XIIIのA鎖活性化産物のバンドは確認されなかった。

[0085]

(3) 205A99Nトロンビンの活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の測定 205A99Nトロンビン $50\mu$ 8を、PBS 1mlに溶解し、その $100\mu$ 1を、標準血漿(国際試薬社)に $100\mu$ 1と混和し、APTTを測定した。PBSを、標準血漿(国際試薬社)に1:1で添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは55秒であったのに対し、205A99NトロンビンのAPTTは58秒であった。

[0086]

[実験例11]

(1) B鎖203 グリシンをアラニンにB鎖205セリンをアラニンに置換したトロンビン(203 A 205 Aトロンビン)の発現

203A205AトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。203A205Aトロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号23に示す。

203A205Aトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上ほぼ純化された203A205Aトロンビンが約4mg得られた。

[0087]

(2) 203A205Aトロンビンの基質分解活性測定

(1)で得られた203A205Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、インキュベーション後の吸光度の増加はみられなかった。

さらに、203A205Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、FXIIIのA鎖活性化産物のバンドは確認されなかった。203A205Aトロンビンはヒルジン6末端ペプチド結合性を有し且つ十分に活性を失っていることが分かった。203A205Aトロンビン $100\mu$ gを、5mM PIPES緩衝液 0.15M Na61 (pH7.4) 1m1に溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1 の割合となるように添加し、APTTを測定した。5mM PIPES緩衝液 0.15M Na61 (pH7.4) を、標準血漿(国際試薬社)に1:1 の割合となるように添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは55秒であったのに対し、203A205AトロンビンのAPTTは59秒であった。

[0088]

## [実験例12]

(1) B鎖205セリンをアラニンに、B鎖43ヒスチジンをアラニンに置換したトロンビン (205A43Aトロンビン) の発現

205A43AトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。205A43Aトロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号25に示す。

205A43Aトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。<math>SDS-PAGE上ほぼ純化された205A43Aトロンビンが約3mg得られた。

## [0089]

- (2) 205A43Aトロンビンの基質分解活性測定
- (1)で得られた205A43Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、インキュベーション後の吸光度の増加はみられなかった。

205A43Aトロンビン $50\mu$ gを、PBS1m1に溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1の割合となるように添加し、APTTを測定した。PBSを、標準血漿(国際試薬社)に1:1の割合となるように添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは46秒であったのに対し、205A43AトロンビンのAPTTは78秒であった。

#### [0090]

(3) PTの測定:205A43Aトロンビン $50\mu$ gを、PBS lmlに溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1の割合となるように添加し、PTを測定した。またPBSを、標準血漿(国際試薬社)に1:1の割合となるように添加したものをコントロールとし、PTを測定した。なお、PT試薬にはSIGMA社のTHROMBOPLASTIN WITH CALSIUMを使用した。その結果、コントロールのPTは24秒であったのに対し、205A43AトロンビンのPTは25秒であった。

## $[0\ 0\ 9\ 1\ ]$

(4) カルボキシル基修飾205A43Aトロンビンの活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の測定

#### [0092]

修飾された205A43Aトロンビン $50\mu$  gをPBS 1m1に溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1の割合となるように添加し、APTTを測定した。PBSを、標準血漿(国際試薬社)に1:1で添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは46秒であったのに対し、修飾205A43AトロンビンのAPTTは190秒であった。

## [0093]

結果を図るに示す。

(5) PRPを用いた205A43Aトロンビンの抗血小板機能の評価

評価 1 : 採血直後のクエン酸添加全血 10ml を、800rpm で 15 分遠心し、上澄みより PRP 2ml を得た。さらに 2800rpm で 10 分遠心分離することにより PPP を得た。  $100\mu$  1 添加した場合に 205A43A トロンビンの終濃度が、  $30\mu$  g / m 1 になるように濃度が調製された、 205A43A トロンビンの PBS 溶液を、  $100\mu$  1 ずつ  $PRP 130\mu$  1 に添加し、惹起物質として 5 mg ml リストセチン PBS 溶液  $35\mu$  1 を添加した。 コントロールとして、  $PRP 130\mu$  1 に、 5 mM リン酸緩衝液 0.15M NaCl、 pH7.4  $100\mu$  1 を添加し透過率の経時変化を記録した。

評価2:惹起物質として1μg/mlカルボキシル基修飾トロンビンPBS溶液を用いた以外は

、評価 1 の方法に準じて実験を行った。コントロールとして、PRP  $130\mu$  1 に、PBS  $100\mu$  1 を添加し透過率の経時変化を記録した。結果を図 4 に示す。

評価 3 : 惹起物質として  $1\mu$  g/mlカルボキシル基修飾トロンビン PBS溶液を用い 1 0 0  $\mu$  1 添加した場合に 205A43Aトロンビンの終濃度が、それぞれ  $120\mu$  g/m 1,  $30\mu$  g/mlになるように濃度が調製された、 205A43Aトロンビンの PBS溶液を加え、評価 1 の方法に準じて実験を行った。 結果を図 1 5 に示す。

評価 4:205A43Aトロンビンの終濃度が、 $150\mu$  g/mlになるように濃度が調製された、205A43AトロンビンのPBS溶液を、 $100\mu$ 1ずつPRP1 $30\mu$ 1に添加し、惹起物質として 5 m g/mlリストセチン PBS 溶液 $35\mu$ 1を添加した。コントロールとして、PRP1 $30\mu$ 1に、PBS  $100\mu$ 1を添加し透過率の経時変化を記録した。205A43Aトロンビンは高濃度においてもリストセチン惹起血小板凝集抑制効果は確認されなかった。

#### $[0 \ 0 \ 9 \ 4]$

(6) PRPを用いたカルボキシル基修飾205A43Aトロンビンの抗血小板機能の評価

評価 1 : 採血直後のクエン酸添加全血  $10\,\mathrm{ml}$  を  $800\,\mathrm{rpm}$  で  $15\,\mathrm{分遠}$  心し、上澄みより  $PRP2\,\mathrm{ml}$  を 得た。さらに  $2500\,\mathrm{rpm}$  で  $10\,\mathrm{分遠}$  心 分離することにより PPP を 得た。  $100\,\mu$  1 添加した場合、カルボキシル基修飾  $205\,\mathrm{A43A}$  トロンビンの終濃度が、それぞれ  $30\,\mu$   $g/\mathrm{m}$  1 、  $15\,\mu$   $g/\mathrm{m}$  1 、 7 、  $5\,\mu$   $g/\mathrm{m}$  1 になるように 濃度が調整された、カルボキシル基修飾  $205\,\mathrm{A43A}$  トロンビンの  $5\,\mathrm{m}$  M リン酸緩衝液  $0.15\,\mathrm{M}$  NaCl (pH7.4) 溶液  $3\,\mathrm{m}$  種類を、それぞれ  $100\,\mu$  1 ずつ  $PRP130\,\mu$  1 に添加し、 惹起物質として  $5\,\mathrm{m}$   $g/\mathrm{ml}$  リストセチン  $5\,\mathrm{m}$  M リン酸緩衝液  $0.15\,\mathrm{M}$  NaCl (pH7.4) 溶液  $35\,\mu$  1 を添加した。 コントロールとして、  $PRP130\,\mu$  1 に、  $5\,\mathrm{m}$  M リン酸緩衝液  $0.15\,\mathrm{M}$  NaCl (pH7.4)  $100\,\mu$  1 を添加し透過率の経時変化を記録した。なお、透過率の測定は EASY TRACER ET-800 (東京光電株式会社)を用いて行った。 結果を図  $5\sim7$  に示す。

評価 2 : 惹起物質として $1\mu$  g/mlカルボキシル基修飾トロンビン 5 m M リン酸緩衝液 0.15 M NaCl (pH7.4) 溶液を用いた以外は、評価(1) の方法に準じて実験を行った。コントロールとして、PRP130 $\mu$  l に、5 m M リン酸緩衝液 0.15 M NaCl (pH7.4)  $100\mu$  l を添加し透過率の経時変化を記録した。なお、透過率の測定はEASY TRACER ET-800 (東京光電株式会社)を用いて行った。結果を図  $8 \sim 1$  0 に示す。

#### [0095]

(7) 205A43Aトロンビン及びアンヒドロトロンビンのフィブリノゲン及びFVIIIへの結合特異性の比較

205A43Aトロンビン誘導体及びアンヒドロトロンビンの約0.1mg/mlの濃度の10mM リン酸緩衝液(pH7.7)溶液を、それぞれNHS活性化CMデキストランキュベット(日製産業社)に添加し、10分間、25  $\mathbb C$  で撹拌することにより、被験サンプル(トロンビン誘導体)をNHS 活性化CM デキストランキュベットに固定し、205A43Aトロンビン及びアンヒドロトロンビン固定化キュベットを得た。引き続き 1M エタノールアミン(pH8)を0.2ml加えブロッキング処理を行った。

205A43Aキュベット及びアンヒドロトロンビンキュベットに100nMのフィブリノゲン及びFV IIIを添加しそれぞれの結合曲線をモニターした。結果を図16および図14に示す。

図14よりアンヒドロトロンビンキュベットにはフィブリノゲンとFVIIIがほぼ同程度結合しているのに対し、図16から205A43AキュベットにはFVIIIの方がフィブリノゲンより多い結合が確認された。構造変化を最小にするため単純に活性中心セリンをデヒドロアラニンに変換する事で得られたアンヒドロトロンビンに比較し、205A43Aトロンビンは高いFVIII特異性を有している事が分かった。

#### [0096]

以上の結果から、205A43Aトロンビン誘導体は化学修飾の有無に関わらず強いAPTT延長効果を有した。また化学修飾によってさらにAPTT延長効果は増加した。M-トロンビン惹起血小板凝集抑制(PAR1活性化阻害)に依存した血小板凝集抑制効果は化学修飾の有無にかかわらず有したが、化学修飾後の方が非常に強いものであった。したがって、205A43Aトロンビン誘導体はAPTTを中心とした血液凝固に主に強く作用し且つおだやかな血小板凝集

抑制効果を有するのに対し、カルボキシル基修飾205A43Aトロンビン誘導体はAPTTと共に強い抗血小板能を有する事が分かった。修飾された205A43AトロンビンはM-トロンビン惹起血小板凝集抑制(PAR1活性化阻害)に加えリストセチン惹起血小板凝集抑制効果も有していたが、修飾をしていない205A43Aトロンビンは高濃度においてもリストセチン惹起血小板凝集を有してはいなかった。よって下記に示される特徴を有した抗血栓トロンビンが得られた。

修飾205A43Aトロンビン APTT延長効果(大)、PAR1阻害(大)、リストセチン惹起血小板凝集(大)

205A43Aトロンビン APTT延長効果(大)、PAR1阻害(小)、リストセチン惹起血小板凝集(無し)

また、IAsysを用いた基質特異性確認実験において205A43Aトロンビンが非常に高いAPTT 延長効果を有していた理由として、活性中心セリン及びヒスチジンを同時に変異させた本誘導体がその変異によって、完全に基質分解活性を失うとともに、アンヒドロトロンビンに比較し高いFVIII特異性(フィブリノゲンに対し特異性が低下)を有していたためと推測された。

後述の実験例16および17記載のように他のアミノ酸の置換の組み合わせにおいても活性中心Ser、His を同時に変異させた誘導体はAPTT延長を主効果とした高い抗血栓能を有する事がわかった。

#### [0097]

### [実験例13]

(1) B鎖203グリシンをアラニンにB鎖205セリンをグリシンにB鎖77リシンをグルタミン酸に置換したトロンビン(77E203A2056トロンビン)の発現

77E203A205GトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。77E203A205Gトロンビン塩基配列を配列番号27に示す。

77E203A205Gトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上ほぼ純化された77E203A205Gトロンビンが約3mg得られた。

### [0098]

(2) 77E203A205Gトロンビン添加血液のAPTTの測定

77E203A205Gトロンビン $50\mu$ 8をPBSに溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1の割合となるように添加し、APTTを測定した。同様にPBSを、標準血漿(国際試薬社)に容量比1:1の割合となるように添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは44秒であったのに対し、77E203A205GトロンビンのAPTTは74秒であった。又、以上より、203A205Gトロンビンは十分な抗血栓能を有していなかったが77E203A205Gトロンビンは77リシンの置換によりフィブリノゲン親和性を低下させることにより大幅なAPTT延長効果の増加が起こり十分な抗血栓効果を有している事が分かった。

### [0099]

(3)203A205G77Eトロンビンのフィブリノゲン及びトロンボモジュリンへの結合特異性の確認

203A205Gトロンビン誘導体の0.1 mg/ml 10 mM リン酸バッファー(pH7.7)溶液、および 203A205G77Eトロンビン誘導体の0.1 mg/ml 10 mM リン酸バッファー(pH7.7)溶液を、それぞれNHS活性化CMデキストランキュベット(日製産業社)に添加し、10分間、25 C で撹拌することにより、被験サンプル(トロンビン誘導体)をNHS活性化CMデキストランキュベットに固定し、203A205Gトロンビン固定化キュベットおよび203A205G77Eトロンビン固定化キュベットを得た。203A205Gキュベットには約4100 arcの蛋白質が203A205G77Eキュベットには約2000 arcの蛋白質が固相化された。引き続き 1 M エタノールアミン(pH8)を0

. 2ml加えブロッキング処理を行った。

さらに両キュベットを同様に洗浄、再生後、両キュベットに500nMの血液凝固第8因子溶液(50mM Tris塩酸 0.15M NaCl 10mM CaCl<sub>2</sub>(pH7.4)に溶解)を $100\mu$ 1加之たところ3分後203A205Gトロンビン固相化キュベットには約300arc secの血液凝固第8因子が吸着され、203A205G77Eトロンビン固相化キュベットには約300arc secの血液凝固第8因子が吸着された。

さらに両キュベットを $50\,\mathrm{mM}$  リン酸緩衝液、 $2\,\mathrm{M}$  NaCl、 $30\,\mathrm{mM}$  ベンズアミジン(pH7.4)で洗浄、再生後、 $203\,\mathrm{A}205\,\mathrm{G}$ トロンビン固定化キュベットおよび $203\,\mathrm{A}205\,\mathrm{G}$ 77Eトロンビン固定化キュベットそれぞれに、 $50\,\mathrm{nM}$ の可溶性トロンボモジュリン溶液(コスモバイオ)( $50\,\mathrm{mM}$  リン酸緩衝液、 $0.15\,\mathrm{M}$  NaCl(pH7.4)に溶解)を $100\,\mathrm{\mu}$  1 加えたところ、 $3\,\mathrm{G}$ 6 20 $3\,\mathrm{A}205\,\mathrm{G}$ 77Eトロンビン固相化キュベットには約 $100\,\mathrm{arc}$  secのトロンボモジュリンが吸着され、 $203\,\mathrm{A}205\,\mathrm{G}$ 77Eトロンビン固相化キュベットには約 $20\,\mathrm{arc}$  secのトロンボモジュリンが吸着された。

以上の結果より203A205Gトロンビン誘導体に新たにB鎖77リシンのグルタミン酸への置換を加えることでキュベット上で血液凝固第8因子吸着に対してフィブリノゲン吸着量は約3分の1に トロンボモジュリン吸着は約2分の1に低下している事がわかった。

また I A s y s F A S T F I T P R O G R A M (日製産業)による解析の結果 203 A 205 G に対するフィブリノゲン結合定数は 10.8 n M、血液凝固第 8 因子親和性は 5.07 n M、203 A 205 G 77 E に対するフィブリノゲン親和性は 190 n M、血液凝固第 8 因子親和性は 22.5 n M であった。

この特異性の変化に起因し実験例 1 3 に記載の77E203A205Gトロンビン誘導体は203A205Gトロンビン誘導体に比較し高いAPTT延長能を有している事が予測された。

# [0100]

#### [実験例14]

(1) B鎖203グリシンをアラニンにB鎖205セリンをアラニンにB鎖99アスパラギン酸をアスパラギンにB鎖77リシンをグルタミン酸に置換したトロンビン(77E203A205A99Nトロンビン)の発現

77E203A205A99NトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。77E203A205A99Nトロンビン塩基配列を配列番号29に示す。

77E203A205A99Nトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上ほぼ純化された77E203A205A99Nトロンビンが約3mg得られた。

### 

(2) 77E203A205A99Nトロンビン添加血液のAPTTの測定77E203A205A99Nトロンビン $50\mu$ 8 をPBSに溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1の割合となるように添加し、APTTを測定した。同様にPBSを、標準血漿(国際試薬社)に容量比1:1の割合となるように添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは4:1秒であったのに対し、77E203A205A99NトロンビンのAPTTは3:9秒であった。以上より、77E203A205A99Nトロンビンはヒルジンゲルへの結合能を有し且つ、活性が十分に低下し且つフィブリノゲン親和性を低下させる変異を加えてはているものも十分な抗APTT効果を有していないことがわかった。

[0102]

実験例15

B鎖203グリシンをアラニンにン酸に置換したトロンビン(203Aトロンビン)の発現

203AトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。203Aトロンビン塩基配列を配列番号31に示す。

203Aトロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上ほぼ純化された<math>203Aトロンビンが約2mg得られた。

203Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した。結果を図20に示す。FXIII(第13因子)のA鎖は30分後においてすでに分解物が確認され3時間後には半量以上が分解を受けた。

さらに、203Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法(に従って測定した結果、3時間後クロットが形成された。

以上の結果より 203Aトロンビンは 非特許文献 5 において完全に活性を失った誘導体と報告されているものも、本発明における蛋白基質を用いた活性測定法においては、抗血栓剤として使用する目的においては明らかな蛋白基質分解活性が確認され抗血栓剤として使用することが困難であることが分かった。

 $[0\ 1\ 0\ 3\ ]$ 

実験例16

(1)205セリンをグリシンに43ヒスチジンをアラニンに置換したトロンビン (205G43Aトロンビン)の発現

205643AトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。205643Aトロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号33に示す。

205643A トロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上ほぼ純化された205643A トロンビンが約0.5mg得られた。

 $[0\ 1\ 0\ 4\ ]$ 

(2) 205643A トロンビンの基質分解活性測定

(1)で得られた205G43Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を、前述の方法Aに従って測定した結果、インキュベーション後の吸光度の増加はみられなかった。

以上の結果より、活性中心のセリン、ヒスチジンを同時に置換した205G43A トロンビンは 低濃度においても化学修飾を行わずに高いAPTT延長効果を示すことがわかった。

[0105]

実験例17

(1)205セリンをアラニンに43ヒスチジンをセリンに置換したトロンビン(205A43Sトロンビン)の発現

205A43SトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。205A43Sトロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号35に示す。

205A43S トロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上ほぼ純化された205A43S トロンビンが約3mg得られた。

[0106]

- (2) 205A43S トロンビンの基質分解活性測定
- (1)で得られた205A43S トロンビンの基質分解活性を、前述の方法Bに従って測定した結果、FXIIIのA鎖活性化産物のバンドは確認されなかった。205A43S トロンビンはヒルジンC 末端ペプチド結合性を有し且つ十分に活性を失っていることが分かった。次に205A43S トロンビン $40\mu$  gを、PBS lmlに溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1の割合となるように添加し、APTTを測定した。PBSを、標準血漿(国際試薬社)に1:1の割合となるように添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは42秒であったのに対し、203A205SトロンビンのAPTTは72秒であった。
- 以上の結果より、活性中心のセリン、ヒスチジンを同時に置換した205A43S トロンビンは 化学修飾を行わずに高いAPTT延長効果を示すことがわかった。

 $[0\ 1\ 0\ 7\ ]$ 

(3) 205A43Sトロンビンのフィブリノゲン及びFVIIIへの結合特異性の比較

205A43Sトロンビン誘導体またはアンヒドロトロンビンの 約0.1 mg/mlの10 mM リン酸緩衝液(pH7.4)溶液を、NHS活性化CMデキストランキュベット(日製産業社)に添加し、10分間、25  $\mathbb C$  で撹拌することにより、被験サンプル(トロンビン誘導体)をNHS活性化CM デキストランキュベットに固定し、205A43Sトロンビンまたはアンヒドロトロンビン固定化キュベットを得た。引き続き 1 M エタノールアミン(pH8)を0.2 ml加えブロッキング処理を行った。

205A43Sキュベットまたはアンヒドロトロンビンキュベットに100nMのフィブリノゲンまたはFVIIIを添加しそれぞれの結合曲線をモニターした。結果を図1.7に示す。

図14よりアンヒドロトロンビンキュベットにはフィブリノゲンとFVIIIがほぼ同程度結合しているのに対し、図17より205A43SキュベットにはFVIIIの方がフィブリノゲンより多い結合が確認された。構造変化を最小にするため単純に活性中心セリンをデヒドロアラニンに変換する事で得られたアンヒドロトロンビンに比較し、205A43Sトロンビンは高いFVIII特異性を有している事が分かった。

[0108]

実験例18

(1) B鎖77リシンをグルタミン酸に205セリンをアラニンに43ヒスチジンをアラニンに置換したトロンビン(77E205A43Aトロンビン)の発現

77E205A43A トロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。77E205A43A トロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号37に示す。

77E205A43A トロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法に準じてヒルジンC 末端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画にはバンドは確認されず、溶出ピークにトロンビン同様のバンドが確認された。引き続き実験例1の(3)の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジンC 末端ペプチドカラムによる精製を行った。SDS-PAGE上ほぼ純化された77E205A43A トロンビンが約3mg得られた。

 $[0\ 1\ 0\ 9\ ]$ 

(2) 77E205A43A トロンビン $50\mu$  g及び $25\mu$  gを、PBS 1mlに溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1 の割合となるように添加し、APTTを測定した。PBSを、標準血漿(国際試薬社)に1:1 の割合となるように添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは45秒であったのに対し、77E205A43AトロンビンのAPTTはそれぞれ92秒、85秒であった。

以上の結果より77E205A43Aトロンビンは77リシンをグルタミン酸に変化させることでフィブリノゲン親和性を特異的に低下され、もともと活性中心のセリン及びヒスチジンの同時変異によりFVIII得意性が高まり強いAPTT抑制効果を持っていた205A43Aよりも、さらに得意性が高まり非常に強いAPTT抑制効果を示すことがわかった。

# [0110]

実験例19

(1) B鎖24 グルタミンをグルタミン酸に205セリンをアラニンに43ヒスチジンをアラニンに置換したトロンビン(24E205A43Aトロンビン)の発現

24E205A43A トロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。24E205A43A トロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号 39 に示す。 24E205A43A トロンビンを実験例 1 の( 1 )の方法で発現した。実験例 1 の( 2 )の方法に準じてヒルジン 1 を 表端ペプチド結合性を確認したところ、素通り分画に若干のバンドが確認された。また、溶出ピークに大部分のトロンビンのバンドが確認された。引き続き実験例 1 の( 1 )の方法に準じ、硫酸化セルロファイン、ヒルジン 1 を 表端ペプチドカラムによる精製を行った後、組み換えトロンビンを含有した溶出溶液を 1 50 mM NaHCO 1 pH8に対して透析し、1 50 mM NaHCO 1 pH8 で平衡化したHI TRAP ベンズアミジンカラム 1 mI 1 で 1 で 1 で 1 で 1 で 1 で 1 で 1 で 1 で 1 で 1 で 1 で 1 で 1 で 1 の 1 NaCI pH8にて充分洗浄した後 1 0 mM NaHCO 1 0 1 Na 1 で 1 の 1 Na 1 で 1 の 1 Na 1 で 1 の 1 Na 1

24E205A43A トロンビン $50\mu$ gを、PBS 1m1に溶解したものを、標準血漿(国際試薬社)に容量比で1:1 の割合となるように添加し、APTTを測定した。PBSを、標準血漿(国際試薬社)に1:1 の割合となるように添加したものをコントロールとし、APTTを測定した。なお、APTT試薬には国際試薬社のものを使用した。その結果、コントロールのAPTTは42秒であったのに対し、24E205A43AトロンビンのAPTTは62秒であった。

### 

(2) 24E205A43Aトロンビン及びアンヒドロトロンビンのフィブリノゲン及びFVIIIへの結合特異性の比較

24E205A43Aトロンビン誘導体及びアンヒドロトロンビンを約<math>0.1mg/ml=10mM リン酸緩衝液 (pH7.4) 溶液を、それぞれNHS活性化CMデキストランキュベット(日製産業社)に添加し、10分間、25  $\mathbb C$  で撹拌することにより、被験サンプル(トロンビン誘導体)をNHS活性化CMデキストランキュベットに固定し、24E205A43Aトロンビンまたはアンヒドロトロンビン固定化キュベットを得た。引き続き 1M エタノールアミン(pH8)を0.2m1加えブロッキング処理を行った。

24E205A43Aトロンビンキュベット及びアンヒドロトロンビンキュベットにそれぞれ100nMのフィブリノゲン及びFVIIIを添加しそれぞれの結合曲線をモニターした。結果を図18 および図14に示す。

図 18 より 24 E 20 5 A4 3 A トロンビンキュベットには F V III の方がフィブリノゲンより多くの結合が確認された。 24 E 20 5 A4 3 A は高い F V III 特異性を有している事が確認された。

# [0112]

(3) 205A43Aトロンビン及び24E205A43Aトロンビンのトロンボモジュリン親和性の比較 205A43Aトロンビン及び24E205A43Aトロンビン固定化キュベットに対し16.7nM ついで50n Mのトロンボモジュリンを加えた。

結合曲線を図19に示す。尚 205A43Aトロンビンは約980arc, 24E205A43Aトロンビンは約1380arcのトロンビン誘導体が固定化されている。

以上の結果より24E205A43Aトロンビンはフィブリノゲンに対しFVIII特異性が高い誘導体でありAPTT延長効果も有していた。さらにはトロンボモジュリン結合能も大きく低下していることより生態に投与した際、本トロンビン変異体が生体内でのトロンビンによるプロティン(活性化を抑制(阻害)することは無いと考えられる。

# [0113]

205セリンをアラニンに99アスバラギン酸をアラニンに置換したトロンビン (205A99Aトロンビン) の発現

205A99AトロンビンのDNAに相当する変異導入プライマーを用いたPCR法にて合成した。205A99Aトロンビンをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号41に示す。

205A99A トロンビンを実験例1の(1)の方法で発現した。実験例1の(2)の方法にエカリンによる活性化を行ったところ、エカリンによるA、B鎖への切断が起こらなかった

この結果より205A99Aトロンビンをプレトロンビンの形でCHO細胞にて発現した本実験においては2本鎖に活性化された205A99Aトロンビンを得ることはできなかった。

### $[0\ 1\ 1\ 4\ ]$

## [実験例21]

カルボキシル基修飾アンヒドロトロンビン及びカルボキシル基修飾203A205Gトロンビン、205A43AトロンビンのAPTTの比較

PBSに溶解した $50\mu$  g/mlのカルボキシル基修飾アンヒドロトロンビン、カルボキシル基修飾203A205Gトロンビン、205A43Aトロンビンを以下の2 方法でAPTTを測定した。コントロールとしてPBSのみを添加して下記方法 a, b にてAPTTを測定した。尚 カルボキシル基修飾アンヒドロトロンビンは残存活性の影響を極力防ぐために合成後 APMSF 試薬(シグマ社)を2 mg/ml添加し不活性化を行い、さらにその後PBSにて十分透析を行い残存APMSF 試薬の除去を行った。

### [0115]

方法 b :標準血漿 1 0 0  $\mu$  1 PBSに溶解した各サンプル 1 0 0  $\mu$  1 及びAPTT試薬 5 0  $\mu$  1 を加え 3 7  $\mathbb{C}$  で 5 分 インキュベーションを行った後 0 . 1 M  $\mathbb{C}$  a  $\mathbb{C}$  1 2  $\mu$  1 加え カルシウム添加から凝固までの時間を測定した。

# $[0\ 1\ 1\ 6\ ]$

結果を以下に示す。

コントロール方法 a 43秒; 方法 b 45秒カルボキシル基修飾アンヒドロトロンビン方法 a 105秒; 方法 b 66秒カルボキシル基修飾203A205Gトロンビン方法 a 75秒; 方法 b 80秒205A43Aトロンビン方法 a 67秒; 方法 b 77秒カルボキシル基修飾205A43Aトロンビン方法 a 145秒; 方法 b 170秒

#### $[0\ 1\ 1\ 7\ ]$

以上より、カルボキシル基修飾アンヒドロトロンビンにおいては方法aにて良くAPTTを延長したのに対しカルボキシル基修飾203A205Gトロンビン、205A43Aトロンビンにおいては方法bにて良くAPTTが延長された。またカルボキシル基修飾203A205Gトロンビンは205A43Aトロンビンよりも同一条件においてAPTT延長効果は高かった。

方法 a は標準血漿と各トロンビン誘導体混合物のインキュベーション時間が無いのに対し方法 b は標準血漿と各トロンビン誘導体混合物が37  $\mathbb C$  で5 分インキュベーションされる。カルボキシル基修飾アンヒドロトロンビンにおいて方法 b でAPTT延長効果が少なくなった理由としてアンヒドロトロンビンから化学的に合成されるアンヒドロトロンビンにおいて極微量に残存するトロンビンの存在を完全に否定できず極わずかなトロンビンが標準血漿と37  $\mathbb C$  インキュベーションすることで微量の血液凝固因子(特に第8因子)活性化が起き、APTT延長効果を抑制したものと考えられた。一方、カルボキシル基修飾203 A205 6 トロンビン、205 A43 Aトロンビンにおいては遺伝子組み換え技術によって完全に活性を失っているトロンビン誘導体であり、標準血漿とインキュベーションした場合においても血液凝固因子の活性化は起きず、むしろインキュベーションを行った場合の方が平衡化され基質特異性が良く反映され顕著にAPTTを延長した。

以上の考察より、抗血栓剤としてトロンビン誘導体及びそのカルボキシル基修飾誘導体

を用いる場合には極微量のトロンビンの混入が考えられるアンヒドロトロンビンを用いるよりも、遺伝子工学的に完全に不活性化され且つ均一な組み換え誘導体から選ばれる適切な薬効を有した本発明で得られる遺伝子組み換えトロンビン及びそのカルボキシキル基修飾誘導体の方が安全であり、かつ37℃で少なくとも数時間は存在するvivoでは薬効も高いことが予想される事が示された。

【産業上の利用可能性】

[0118]

本発明のトロンビン誘導体は、抗血栓剤、抗炎症剤などの医薬として好適に用いることができる。

【図面の簡単な説明】

 $[0\ 1\ 1\ 9\ ]$ 

- 【図1】 5 mg/m1 リストセチンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、カルボキシル基修飾203A205Gトロンビン( $37 \mu\text{ g/ml}$ )の抗血小板効果を示す図。009がコントロールを、010がカルボキシル基修飾203A205Gトロンビンを示す。縦軸が透過率(%)、横軸が時間(分)を示す(図  $2 \sim 1$  2 、 1 5 も同じ)。
- 【図 2 】  $1\mu$  g/m 1 カルボキシル基修飾トロンビンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、カルボキシル基修飾 203 A 205 Gトロンビン( $37\mu$  g/m 1)の抗血小板効果を示す図。002 がコントロールを、001 がカルボキシル基修飾 203 A 205 Gトロンビンを示す。
- 【図3】 5 mg/ml リストセチンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、205A43Aトロンビン( $30 \mu \text{ g/ml}$ )の抗血小板効果を示す図。079がコントロールを、080が205A43Aトロンビンを示す。
- 【図4】  $1\mu$ g/m 1 カルボキシル基修飾トロンビンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、205A43Aトロンビン( $30\mu$ g/ml)の抗血小板効果を示す図。083がコントロールを、084が205A43Aトロンビンを示す。
- 【図5】 5 mg/ml リストセチンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、カルボキシル基修飾 205A43Aトロンビン( $30 \text{ }\mu\text{ }g/\text{ml}$ )の抗血小板効果を示す図。056 がコントロールを、055 がカルボキシル基修飾 205A43Aトロンビンを示す。
- 【図 6 】 5 m g/m l リストセチンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、カルボキシル基修飾205A43Aトロンビン( $15 \mu \text{ g/m l}$ )の抗血小板効果を示す図。042がコントロールを、041がカルボキシル基修飾205A43Aトロンビンを示す。
- 【図7】 5 mg/ml リストセチンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、カルボキシル基修飾205A43Aトロンビン( $7.5 \mu\text{ g/ml}$ )の抗血小板効果を示す図。058がコントロールを、057がカルボキシル基修飾205A43Aトロンビンを示す。
- 【図 8】  $1\mu$  g/mlカルボキシル基修飾トロンビンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、カルボキシル基修飾 205A43Aトロンビン( $30\mu$  g/ml)の抗血小板効果を示す図。 064がコントロールを、063がカルボキシル基修飾 205A43Aトロンビンを示す。
- 【図 9】  $1\mu$  g/m 1 カルボキシル基修飾トロンビンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、カルボキシル基修飾 205A43Aトロンビン( $15\mu$  g/m 1)の抗血小板効果を示す図。067がコントロールを、066がカルボキシル基修飾 205A43Aトロンビンを示す。
- 【図10】  $1\mu$  g/m 1 カルボキシル基修飾トロンビンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、カルボキシル基修飾 205A43Aトロンビン( $7.5\mu$  g/m 1)の抗血小板効果を示す図。070がコントロールを、069がカルボキシル基修飾 205A43Aトロンビンを示す。
- 【図11】 5 mg/ml リストセチンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、203 A205 Gトロンビン( $80 \mu \text{ g/ml}$ )の抗血小板効果を示す図。104がコントロールを、095が203 A205 Gトロンビンを示す。
- 【図12】  $1\mu$  g/m 1 カルボキシル基修飾トロンビンで血小板凝集を惹起したPRPに対する、203A205Gトロンビン(80 $\mu$  g/ml)の抗血小板効果を示す図。097がコントロールを、098が203A205Gトロンビンを示す。
- 【図 1 3 】 203A205Gトロンビンのフィブリノゲン及びFVIII(第8因子)への結合特異性を示す図。破線が $1.0\times10^{-7}M$ のフィブリノゲン、実線が $1.0\times10^{-7}M$ のFVIIIを示

す。

- 【図14】アンヒドロトロンビンのフィブリノゲン及びVIIIへの結合特異性を示す図。破線が $1.0 \times 10^{-7}$ Mのフィブリノゲン、実線が $1.0 \times 10^{-7}$ MのVIIIを示す。
- 【図 1 6 】 205A43Aトロンビン誘導体のフィブリノゲン及びFVIIIへの結合特異性を示す図。破線が $1.0 \times 10^{-7}$ Mのフィブリノゲン、実線が $1.0 \times 10^{-7}$ MのFVIIIを示す。
- 【図 1 7】 205A43Sトロンビン誘導体のフィブリノゲン及びFVIIIへの結合特異性を示す図。破線が $1.0 \times 10^{-7}$ Mのフィブリノゲン、実線が $1.0 \times 10^{-7}$ MのFVIIIを示す。
- 【図 1 8】 24E205A43Aトロンビンのフィブリノゲン及びFVIIIへの結合特異性を示す図。破線が $1.0 \times 10^{-7}$ Mのフィブリノゲン、実線が $1.0 \times 10^{-7}$ MのFVIIIを示す。
- 【図 1 9】 205A43Aトロンビン及び24E205A43Aトロンビンのトロンボモジュリン親和性を示す図。Dが205A43Aトロンビン、Eが24E205A43Aトロンビンを示す。
- 【図 2 0 】 203Aトロンビンのトロンビン基質分解活性を示す電気泳動の図(写真)。 1 は分子量マーカー、 2 , 5 は空のレーン、 3 はFXIIIのみ、 4 はFXIII+ 203Aトロンビンを示す。また、レーン  $6 \sim 1$  0 はFXIIIに203Aトロンビンを加えてそれぞれ0, 0. 5 , 1 , 3 , 6 時間反応させたものを示す。

### SEQUENCE LISTING

```
<110> Chisso Corporation
       FUJIMORI KOGYO Co., Ltd.
〈120〉 トロンビン誘導体、およびそれを含有する医薬組成物
\langle 130 \rangle P - C 4 1 1 9 1
\langle 150 \rangle JP 2004/080950
<151> 2004-03-19
\langle 150 \rangle JP 2004/170346
<151> 2004-06-08
\langle 150 \rangle JP 2004/217834
<151> 2004-07-26
\langle 160 \rangle 42
\langle 170 \rangle PatentIn version 3.1
\langle 2 1 0 \rangle = 1
<211> 927
<212> DNA
<213> Homo sapiens
< 2 2 0 >
<221> CDS
\langle 2 \ 2 \ 2 \rangle (1).. (927)
< 2 2 3 >
< 4 0 0 > 1
acc gcc acc agt gag tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc
                                                                            4.8
Thr Ala Thr Ser Glu Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly
                                       1.0
tcg gga gag gca gac tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg
                                                                             96
Ser Gly Glu Ala Asp Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser
                                   25
             2.0
                                                         3 0
ctg gag gac aaa acc gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg
                                                                            1 4 4
Leu Glu Asp Lys Thr Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly
        3 5
                              4 0
                                                     4.5
cgc att gtg gag ggc tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag
                                                                            192
Arg Ile Val Glu Gly Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln
    5.0
                          5 5
gtg atg ctt ttc cgg aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc
                                                                            2 4 0
Val Met Leu Phe Arg Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser
                 7 0
                          7 5
```

ctc atc agt gac cgc tgg gtc ctc acc gcc gcc cac tgc ctc ctg tac

Leu	I 1 e	Ser	Asp	Arg 85	Trp	V a l	Leu	Thr	A 1 a	Ala	H i s	Суѕ	Leu	Leu 95	Tyr	
ссв	ССС	tgg	gac	aag	аас	t t c	асс	gag	a a t	gac	ctt	ctg	gtg	свс	a t t	3 3 6
			Asp													
			100					105					110			
ggc	aag	сас	t c c	СВС	аса	agg	t a c	gag	сва	аас	a t t	gaa	a a g	a t a	t $c$ $c$	3 8 4
Gly	Lys	His	Ser	Arg	Thr	Arg	Туr	Glu	Arg	Asn	Пlе	Glu	Lys	Ile	Ser	
		115					120					1 2 5				
a t g	t t g	gaa	a a g	a t c	t a c	a t c	сас	$C \; C \; C$	agg	$t\ a\ \varepsilon$	a a c	t g g	Сдд	gag	a a c	4 3 2
Met	Leu	Glu	Lys	I 1 e	Tyr	I1e	His	Pro	Arg	Tyr	Asn	Trp	Arg	Glu	Asn	
	130					135					140					
c t g	gac	Сдд	gac	a t t	gcc	c t g	a t g	a a g	c t g	a a g	a a g	$c\ c\ t$	g t t	gcc	t t c	480
L e u	A s p	Arg	Asp	Пlе	Ala	Leu	Met	Lys	Leu	Lys	Lys	Pro	Val	Ala	P h e	
l 4 5					150					155					160	
a g t	gac	t a c	a t t	сас	c c t	g t g	t g t	c t g	$C \;\; C \;\; C$	gac	agg	gag	a c g	g c a	gcc	5 2 8
S e r	Asp	Tyr	Пe	H i s	Pro	V a l	Сус	Leu	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	
				165					170					175		
a g c	t t g	c t c	cag	g c t	gga	t a c	aag	ggg	Сдд	g t g	a c a	g g C	t g g	ggC	a a c	5 7 6
Ser	Leu	Leu	Gln	Ala	Gly	Туr	Lуs		Arg	V a l	Thr	Gly	Trp	Gly	Asn	
			180					185					190			
c t g	aag	gag	a c g	t g g	a c a	g C C	аас	gtt	ggt	a a g	ggg	cag	$C \; C \; C$	a g t	gtc	6 2 4
Leu	Lуs		Thr	Trp	Thr	Ala		V a l	Gly	Lys	Gly		Pro	Ser	V a l	
		195					200					2 0 5				
	cag		g t g													672
Leu		Val	Val	Asn	Leu		Пe	V a l	Glu	Arg		Val	Суѕ	Lys	Asp	
	2 1 0					2 1 5					2 2 0					
t c c			a t c													7 2 0
Ser	Thr	Arg	Пe	Arg		Thr	Asp	Asn	Met		Cys	Ala	Gly	Туr		
2 2 5					2 3 0					2 3 5					2 4 0	
			ggg													768
Pro	Asp	Glu	Gly		Arg	Gly	Asp	Ala		Glu	Gly	Asp	Ser		Gly	
				2 4 5					250					255		
			a t g												ggC	8 1 6
Pro	Phe	Val	Met	Lys	Ser	Pro	Phe		Asn	Arg	Trp	Туr		Met	Gly	
			260					265					270			
			t g g													864
I I e	V a l		Trp	G 1 y	Glu	Gly		Asp	Arg	Asp	Gly		Tyr	Gly	Phe	
		2 7 5					280					285				
			gtg													9 1 2
Туr		His	Val	Phe	Arg		Lys	Lys	Trp	Пlе		Lys	V a l	I I e	Asp	
	2 9 0					295					3 0 0					<del>-</del>
			gag	t a g												9 2 7
	P h e	Gly	Glu													
3 0 5																
201	n x :	0														
< 2.1 (		2														
< 2 1 2		3 0 8 P <b>R T</b>														

<211> 308 <212> PRT <213> Homo sapiens

```
<400> 2
Thr Ala Thr Ser Glu Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly
Ser Gly Glu Ala Asp Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser
                                25
Leu Glu Asp Lys Thr Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly
                            4 0
Arg Ile Val Glu Gly Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln
                        5.5
                                            6.0
Val Met Leu Phe Arg Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser
                   7.0
                                       75
Leu Ile Ser Asp Arg Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr
                                    90
                8 5
Pro Pro Trp Asp Lys Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile
                       1 0 5
          100
Gly Lys His Ser Arg Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser
                                  1 2 5
       115
                            1 2 0
Met Leu Glu Lys Ile Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn
                        1 3 5
                                            140
Leu Asp Arg Asp Ile Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe
                    150
                                        155
1 4 5
Ser Asp Tyr Ile His Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala
                165
                                    1 7 0
Ser Leu Leu Gln Ala Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn
           180
Leu Lys Glu Thr Trp Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val
                            200
                                                205
Leu Gln Val Val Asn Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp
                       2 1 5
    2 1 0
                                            2 2 0
Ser Thr Arg Ile Arg Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys
                    2 3 0
                                        235
Pro Asp Glu Gly Lys Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ser Gly Gly
                2 4 5
                                   250
Pro Phe Val Met Lys Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly
                                                     270
                                265
            260
lle Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe
        275
                            280
                                                285
Tyr Thr His Val Phe Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp
    290
                        295
                                            3 0 0
Gln Phe Gly Glu
305
< 2 1 0 >
< 2 1 1 > 1 0
< 2 1 2 >
     PRT
<213> Homo sapiens
< 4.0.0 >
Gly Asp Glu Glu Ile Pro Glu Glu Tyr Leu
```

1.0

```
< 2 1 0 >
      4
\langle 211 \rangle = 73
\langle 2 1 2 \rangle PRT
<213> Homo sapiens
<400>
Arg Arg Pro Glu Ser Lys Ala Thr Asn Ala Thr Leu Asp Pro Arg Ser
                 5
                                      1.0
Phe Leu Leu Arg Asn Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp
                                  25
                                                        3 0
             2 0
Glu Glu Lys Asn Glu Ser Gly Leu Thr Glu Tyr Arg Leu Val Ser Ile
                              4 0
Asn Lys Ser Ser Pro Leu Gln Lys Gln Leu Pro Ala Phe Ile Ser Glu
                          5 5
                                               6.0
Asp Ala Ser Gly Tyr Leu Thr Ser Ser
                     7.0
< 2 1 0 >
<211> 1056
<212>
       DNA
< 213>
       Homo sapiens
< 2 2 0 >
< 2 2 1 >
       CDS
< 2 2 2 >
      (1)...(1056)
< 2 2 3 >
< 4 0 0 >
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
                                                                           4.8
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
                 5
                                      1.0
                                                                            96
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
             2.0
                                  25
                                                        30
caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag
                                                                           1 4 4
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
        3.5
                              4 0
                                                    4.5
tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac
                                                                          192
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
                          55
tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc
                                                                           2 4 0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
                 7 0
                                           7.5
gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc
                                                                           288
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
                 8.5
                                       9 0
                                                                          3 3 6
tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
```

			1 0 0					105					1 1 0			
aag	a g t	ССС		gag	ctg	ctg	t g t		gcc	a g c	c t c	a t c		gac	СВС	3 8 4
Lys		Pro														
·		115					120	·				1 2 5		•		
t g g	gtc		асс	gcc	gcc	сас	t g c	c t c	ctg	t a c	ссв		t g g	gac	aag	4 3 2
_		L e u														
•	130					135	•			•	1 4 0			•	- •	
аас	t t c	асс	gag	a a t	gac		c t g	gtg	СВС	a t t		aag	сас	t c c	СВС	480
Asn		Thr														
1 4 5					150					155		·			160	
	agg	t a c	gag	сва	аас	a t t	gaa	aag	a t a		a t g	t t g	gaa	aag	a t c	5 2 8
		Туr													I 1 e	
		•		165				·	170					175		
t a c	a t c	сас	ССС		t a c	аас	tgg	сдд		аас	ctg	gac	сдд		a t t	5 7 6
		His														
·			180		·		•	185				•	190	•		
gcc	ctg	a t g		ctg	aag	aag	c c t		gcc	t t c	a g t	gac	t a c	a t t	сас	6 2 4
	Leu						Pro									
		195	·		•	•	200					2 0 5				
сct	gtg	t g t	ctg	ссс	gac	agg	gag	a c g	gca	gcc	a g c	t t g	ctc	сав	gct	672
Pro	Val	Суѕ														
	2 1 0					2 1 5					2 2 0					
gga	t a c	aag	ggg	Сдд	gtg	a c a	g g C	tgg	ggc	аас	ctg	aag	gag	acg	t g g	7 2 0
Gly	Туr	Lуs													Trp	
2 2 5					2 3 0					2 3 5					2 4 0	
аса	gcc	аас	gtt	g g t	aag	ggg	сав	ССС	a g t	gtc	ctg	сав	gtg	gtg	аас	768
		Asn													Asn	
				2 4 5					250					255		
ctg	ССС	a t t	gtg	gag	Сдд	ссв	gtc	t g c	aag	gac	t c c	асс	Сдд	a t c	C g C	8 1 6
Leu	Pro	Пe	Val	Glu	Arg	Pro	V a l	Суѕ	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg	I 1 e	Arg	
			260					265					270			
a t c	a c t	gac	a a c	a t g	t t c	t g t	g c t	g g t	t a c	aag	c c t	gat	gaa	ggg	a a a	864
Пlе	Thr	Asp	Asn	Met	Phe	Суѕ	Ala	Gly	Туr	Lys	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys	
		2 7 5					280					285				
сва	ggg	g a t	g C C	t g t	gaa	g g t	gac	a g t	ggg	gga	ссс	t t t	g t c	a t g	aag	9 1 2
Arg	Gly	Asp	Ala	Суѕ	Glu	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Phe	Val	Met	Lys	
	290					295					3 0 0					
a g c	ссс	ttt	аас	аас	C g C	t g g	t a t	саа	a t g	g g C	a t c	g t c	t c a	t g g	ggt	960
Ser	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Туr	Gln	Met	Gly	Пlе	V a 1	Ser	Trp	Gly	
3 0 5					3 1 0					3 1 5					3 2 0	
gaa	g g C	t g t	gac	Сдд	gat	ggg	a a a	t a t	ggc	t t c	t a c	аса	cat	g t g	t t c	1008
Glu	Gly	Суѕ	Asp	Arg	Asp	Gly	Lys	Туr	Gly	Phe	Туr	Thr	His	Val	Phe	
				3 2 5					3 3 0					3 3 5		
C g C	ctg	aag	aag	t g g	a t a	сав	aag	g t c	a t t	gat	сав	ttt	gga	gag	t a g	1 0 5 6
		Lys														
			3 4 0					3 4 5					3 5 0			

<210> 6 <211> 351

<212> PRT

<400> 6 Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala 1 0 Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln 2.0 2.5 Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu 4 () 4.5 Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp 55 6.0 Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr 7 0 75 Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly 9 0 8 5 Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg 1 0 0 1 0 5 1 1 0 Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg 1 2 0 115 1 2 5 Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys 130 135 140 Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg 150 155 Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile 165 170 Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile 180 185 Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His 195 200 205 Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala 2 1 5 2 2 0 Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp 2 3 0 235 Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn 2 4 5 250 Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg 260 265 270 lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys 2 7 5 280 285 Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Phe Val Met Lys 295 300 Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly 3 1 5 3 1 0 Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe 3 2 5 3 3 0 Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu 3 5 0 3 4 0 3 4 5

```
< 2 1 3 >
     Homo sapiens
< 2 2 0 >
<221> CDS
\langle 2 \ 2 \ 2 \ \rangle (1).. (1056)
< 223>
<400> 7
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
                                                                    4.8
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
                                   1 0
                                                                     96
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
            2.0
                               25
caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag
                                                                    1 4 4
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
        35
                           4 0
                                               45
                                                                    192
tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
                       5 5
    5.0
                                           6.0
tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag tcg ctg gag gac aaa acc
                                                                    2 4 0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
6 5 7 0 7 5
gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc
                                                                    288
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
               85
                   9 0
tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg
                                                                    3 3 6
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
           1 0 0
                               105
aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc
                                                                    384
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
                        1 2 0
       1 1 5
tgg gtc ctc acc gcc gcc cac tgc ctc ctg tac ccg ccc tgg gac aag
                                                                    4 3 2
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
   130
                    135
                                           140
aac ttc acc gag aat gac ctt ctg gtg cgc att ggc aag cac tcc cgc
                                                                    480
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
                   150
                                       155
1 4 5
aca agg tac gag cga aac att gaa aag ata tcc atg ttg gaa aag atc
                                                                    5 2 8
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                   170
               165
                                                                    5 7 6
tac atc cac ccc agg tac aac tgg cgg gag aac ctg gac cgg gac att
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
                   185
          180
gcc ctg atg aag ctg aag aag cct gtt gcc ttc agt gac tac att cac
                                                                    6 2 4
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
                           2 0 0
        195
                                               205
cct gtg tgt ctg ccc gac agg gag acg gca gcc agc ttg ctc cag gct
                                                                    672
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
```

DNA

< 2 1 2 >

	2 1 0				2 1 5					2 2 0					
gga	t a c a	ag ggg	Сдд	g t g	аса	ggc	t g g	ggc	аас	c t g	aag	gag	acg	t g g	7 2 0
Gly	Tyr L	ys Gly	Arg	V a l	Thr	Gly	Trp	Gly	Asn	Leu	Lys	Glu	Thr	Trp	
2 2 5				2 3 0					2 3 5					2 4 0	
аса	g c c a	ac gtt	g g t	a a g	ggg	сав	$C \; C \; C$	a g t	gtc	$\mathfrak{c}$ $\mathfrak{t}$ $\mathfrak{g}$	сав	g t g	g t g	a a c	768
Thr	Ala A	sn Val	Gly	Lys	Gly	Gln	Pro	Ser	V a l	Leu	Gln	Val	V a l	Asn	
			2 4 5					250					255		
$c\ t\ g$	ссса	tt gtg	gag	Сдд	C C g	g t c	t g c	aag	gac	$t\ c\ c$	асс	Сдд	$a\ t\ \varepsilon$	c g c	8 1 6
L e u	Pro I	le Val	Glu	Arg	Pro	V a l	Cys	Lys	A s p	Ser	Thr	Arg	I 1 e	Arg	
		260					265					270			
a t c	act g	ac aac	a t g	t t c	t g t	gct	g g t	$t$ a $\varepsilon$	aag	c c t	g a t	gaa	ggg	a a a	8 6 4
Пlе	Thr A		Met	Phe	Сус		Gly	Tyr	Lуs	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys	
		7 5				280					285				
c g a		at gcc													9 1 2
Arg		sp Ala	Суѕ	Glu		Asp	Gly	Gly	Gly		Phe	V a l	Met	Lys	
	2 9 0				2 9 5					3 0 0					0.00
		tt aac													960
	Pro P	he Asn	Asn		Trp	Tyr	GIn	Met		Пе	Val	Ser	Trp		
3 0 5				3 1 0					3 1 5	4			,	3 2 0	1 0 0 0
	ggc t									t a c				t t c	1008
ьIu	Gly C	ys Asp		Asp	GIY	Lys	lyr		Phe	lyr	lhr	H1 S		Phe	
			3 2 5					3 3 0					3 3 5	4	1 0 5 6
	ctg a			a t a										t a g	1056
Arg	Leu L	уѕ Lуѕ 340		1 1 e	6 I II	Lуs	v a 1 3 4 5	1 1 e	ASD	GIN	rne	350	GIU		
		040					040					000			
< 21 (	) > 8														
< 2 1 1		1													
< 2 1 2															
< 2 1 3	3> Ho		i e n s												
< 4 0 (															
Mak	) > 8														
we t	) > 8 A 1 a H	is Val	Arg	Gly	L e u	Gln	Leu	Pro	G 1 y	Суѕ	Leu	Ala	Leu	Ala	
we t l		is Val	Arg 5	Gly	Leu	Gln	Leu	P r o	G 1 y	Суѕ	Leu	Ala	L e u 1 5	Ala	
1			5					1 0					15		
1	Ala H		5					1 0					15		
l Ala	Ala H	ys Ser 20	5 Leu	V a l	H i s	Ser	G 1 n 2 5	l 0 H i s	V a l	P h e	Leu	A 1 a 3 0	15 Pro	Gln	
l Ala	Ala H Leu C	ys Ser 20 rg Ser	5 Leu	V a l	H i s	Ser	G 1 n 2 5	l 0 H i s	V a l	P h e	Leu	A 1 a 3 0	15 Pro	Gln	
l Ala Gln	Ala H Leu C Ala A	ys Ser 20 rg Ser 5	5 Leu Leu	V a l L e u	His Gln	Ser Arg 40	G 1 n 2 5 V a 1	1 0 H i s A r g	V a l A r g	Phe Thr	L e u A 1 a 4 5	A 1 a 3 0 T h r	15 Pro Ser	Gln Glu	
l Ala Gln	Ala H Leu C Ala A 3	ys Ser 20 rg Ser 5	5 Leu Leu	V a l L e u	His Gln	Ser Arg 40	G 1 n 2 5 V a 1	1 0 H i s A r g	V a l A r g	Phe Thr	L e u A 1 a 4 5	A 1 a 3 0 T h r	15 Pro Ser	Gln Glu	
l Ala Gln Tyr Cys	Ala H Leu C Ala A 3 Gin T	ys Ser 20 rg Ser 5 hr Phe	5 Leu Leu Phe	Val Leu Asn Leu	His Gln Pro 55	Ser Arg 40 Arg	G 1 n 2 5 V a 1 T h r	l 0 H i s A r g P h e	Val Arg Gly Ser	Phe Thr Ser 60	Leu Ala 45 Gly	Ala 30 Thr	15 Pro Ser Ala	G I n G I u A s p T h r	
1 Ala Gln Tyr Cys 65	Ala H Leu C Ala A 3 Gln T 50 Gly L	ys Ser 20 rg Ser 5 hr Phe	5 Leu Leu Phe Pro	Val Leu Asn Leu 70	His Gln Pro 55 Phe	Ser Arg 40 Arg	G 1 n 2 5 V a 1 T h r	10 His Arg Phe Lys	Val Arg Gly Ser	Phe Thr Ser 60 Leu	Leu Ala 45 Gly	Ala 30 Thr Glu Asp	15 Pro Ser Ala Lys	G 1 n G 1 u A s p T h r 8 0	
1 Ala Gln Tyr Cys 65	Ala H Leu C Ala A 3 Gin T	ys Ser 20 rg Ser 5 hr Phe	5 Leu Leu Phe Pro	Val Leu Asn Leu 70	His Gln Pro 55 Phe	Ser Arg 40 Arg	G 1 n 2 5 V a 1 T h r	1 0 H i s A r g P h e L y s A s p	Val Arg Gly Ser	Phe Thr Ser 60 Leu	Leu Ala 45 Gly	Ala 30 Thr Glu Asp	15 Pro Ser Ala Lys Glu	G 1 n G 1 u A s p T h r 8 0	
Ala Gln Tyr Cys 65 Glu	Ala H Leu C Ala A 3 Gln T 50 Gly L Arg G	ys Ser 20 rg Ser 5 hr Phe eu Arg	5 Leu Leu Phe Pro Leu 85	Val Leu Asn Leu 70 Glu	His Gln Pro 55 Phe Ser	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr	G 1 n 2 5 V a 1 T h r L y s	10 His Arg Phe Lys Asp	Val Arg Gly Ser 75 Gly	Phe Thr Ser 60 Leu Arg	Leu Ala 45 Gly Glu	Ala 30 Thr Glu Asp	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95	G l n G l u A s p T h r 8 0 G l y	
Ala Gln Tyr Cys 65 Glu	Ala H Leu C Ala A 3 Gln T 50 Gly L	ys Ser 20 rg Ser 5 hr Phe eu Arg lu Leu	5 Leu Phe Pro Leu 85 Ile	Val Leu Asn Leu 70 Glu	His Gln Pro 55 Phe Ser	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser	G 1 n 2 5 V a I Thr Lys Ile	10 His Arg Phe Lys Asp	Val Arg Gly Ser 75 Gly	Phe Thr Ser 60 Leu Arg	Leu Ala 45 Gly Glu	A 1 a 3 0 T h r G 1 u A s p V a 1 L e u	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95	G l n G l u A s p T h r 8 0 G l y	
l Ala Gln Tyr Cys 65 Glu Ser	Ala H Leu C Ala A 3 Gln T 50 Gly L Arg G Asp A	ys Ser 20 rg Ser 5 hr Phe eu Arg lu Leu 100	5 Leu Phe Pro Leu 85 Ile	Val Leu Asn Leu 70 Glu	His Gln Pro 55 Phe Ser Met	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser	G 1 n 2 5 V a 1 Th r L y s I 1 e P r o 1 0 5	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp	Val Arg Gly Ser 75 Gly	Phe Thr Ser 60 Leu Arg	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met	A 1 a 3 0 T h r G 1 u A s p V a 1 L e u 1 1 0	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe	Gln Glu Asp Thr 80 Gly	
l Ala Gln Tyr Cys 65 Glu Ser	Ala H Leu C Ala A 3 Gln T 50 Gly L Arg G Asp A Ser P	ys Ser 20 rg Ser 5 hr Phe eu Arg lu Leu 100 ro Gln	5 Leu Phe Pro Leu 85 Ile	Val Leu Asn Leu 70 Glu	His Gln Pro 55 Phe Ser Met	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys	G 1 n 2 5 V a 1 Th r L y s I 1 e P r o 1 0 5	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp	Val Arg Gly Ser 75 Gly	Phe Thr Ser 60 Leu Arg	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met	A 1 a 3 0 T h r G 1 u A s p V a 1 L e u 1 1 0	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe	Gln Glu Asp Thr 80 Gly	
l Ala Gln Tyr Cys 65 Glu Ser Lys	Ala H Leu C Ala A 3 Gln T 50 Gly L Arg G Asp A Ser P 1	ys Ser 20 rg Ser 5 hr Phe eu Arg lu Leu 100 ro Gln 15	5 Leu Phe Pro Leu 85 Ile Glu	Val Leu Asn Leu 70 Glu Leu	His Gln Pro 55 Phe Ser Met Leu	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys 120	G 1 n 2 5 V a 1 Thr Lys I 1 e Pro 1 0 5 G 1 y	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp	Val Arg Gly Ser 75 Gly Gln Ser	Phe Thr Ser 60 Leu Arg Val	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met Ile 125	Ala 30 Thr Glu Asp Val Leu 110 Ser	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe	Gln Glu Asp Thr 80 Gly Arg	
l Ala Gln Tyr Cys 65 Glu Ser Lys	Ala H Leu C Ala A 3 Gln T 50 Gly L Arg G Asp A Ser P 1 Val L	ys Ser 20 rg Ser 5 hr Phe eu Arg lu Leu 100 ro Gln 15	5 Leu Phe Pro Leu 85 Ile Glu	Val Leu Asn Leu 70 Glu Leu	His GIn Pro 55 Phe Ser Met Leu His	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys 120	G 1 n 2 5 V a 1 Thr Lys I 1 e Pro 1 0 5 G 1 y	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp	Val Arg Gly Ser 75 Gly Gln Ser	Phe Thr Ser 60 Leu Arg Val Leu Pro	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met Ile 125	Ala 30 Thr Glu Asp Val Leu 110 Ser	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe	Gln Glu Asp Thr 80 Gly Arg	
l Ala Gln Tyr Cys 65 Glu Ser Lys	Ala H Leu C Ala A 3 Gln T 50 Gly L Arg G Asp A Ser P 1	ys Ser 20 rg Ser 5 hr Phe eu Arg lu Leu 100 ro Gln 15	5 Leu Phe Pro Leu 85 Ile Glu	Val Leu Asn Leu 70 Glu Leu	His Gln Pro 55 Phe Ser Met Leu	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys 120	G 1 n 2 5 V a 1 Thr Lys I 1 e Pro 1 0 5 G 1 y	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp	Val Arg Gly Ser 75 Gly Gln Ser	Phe Thr Ser 60 Leu Arg Val	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met Ile 125	Ala 30 Thr Glu Asp Val Leu 110 Ser	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe	Gln Glu Asp Thr 80 Gly Arg	

```
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
                    150
                                         155
1 4 5
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                165
                                     1 7 0
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
                 185
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
        195
                             2 0 0
                                                  2 0 5
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
    2 1 0
                         2 1 5
                                              2 2 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
                     230
                                          235
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
                2 4 5
                                     250
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
            260
                                 265
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
        2 7 5
                                                  285
                             280
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Ala Asp Gly Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
                         295
                                              3 0 0
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
                                 3 1 5
                    3 1 0
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                3 2 5
                    3 3 0
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
            3 4 0
                                 3 4 5
                                                      350
< 2 1 0 > 9
<211> 1056
\langle 2 1 2 \rangle DNA
<213> Homo sapiens
< 2 2 0 >
< 2 2 1 >
      CDS
< 2 2 2 >
       (1)...(1056)
< 2 2 3 >
<400> 9
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
                                                                         4.8
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
                5
                                     1 0
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
                                                                         96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
                                 25
            2.0
                                                      3.0
                                                                        1 4 4
caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
        35
                             4 0
                                                                        192
tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
    5 0
                         5 5
                                              6 0
```

				cct Pro												2 4 0
65	Uly	ьсu	ЛІБ	110	7 0	1110	Olu	гіз	гра	75	ьсu	Glu	лэр	гра	8 0	
				ctg												288
GIU	Arg	GIU	Leu	Leu 85	GIU	Ser	lyr	116	A s <b>p</b> 9 0	GIY	Arg	11e	v a i	6 T u 9 5	GIY	
				a t c												3 3 6
Ser	Asp	Ala	G I u 100	I I e	Gly	Met	Ser	Pro 105	Trp	Gln	Val	Met	Leu 110	Phe	Arg	
aag	a g t	ссс		gag	c t g	c t g	t g t		g c c	a g c	c t c	a t c		g a c	свс	3 8 4
Lys	Ser	Pro 115	Gln	Glu	Leu	Leu	C y s 1 2 0	Gly	Ala	Ser	Leu	II e 125	Ser	Asp	Arg	
				gcc												4 3 2
Trp	V a I 1 3 0	Leu	Thr	Ala	Ala	H 1 s 1 3 5	Суѕ	Leu	Leu	lyr	Pro 140	Pro	lrp	Asp	Lys	
				aat												4 8 0
Asn 145	Phe	Thr	Glu	Asn	A s p 150	Leu	Leu	Val	Arg	1 1 e 1 5 5	Gly	Lys	His	Ser	Arg 160	
				сва												5 2 8
Thr	Arg	Tyr	Glu	Arg 165	Asn	I I e	Glu	Lys	II e 170	Ser	Met	Leu	Glu	Lys 175	Ile	
				agg												5 7 6
Туr	Пе	His	Pro 180	Arg	Tyr	Asn	Trp	Arg 185	Glu	Asn	Leu	Asp	Arg 190	Asp	I I e	
				c t g												6 2 4
Ala	Leu	Met 195	Lys	Leu	Lys	Lys	Pro 200	V a l	Ala	Phe	Ser	Asp 205	Tyr	I I e	His	
				ССС												672
	2 1 0			Pro		2 1 5					2 2 0					
				Cgg												7 2 0
G I y 2 2 5	lyr	Lys	GIY	Arg	v a 1 2 3 0	Inr	GIY	lrp	GIY	A s n 2 3 5	Leu	Lys	GIU	Inr	1 r p 2 4 0	
				ggt												768
Thr	Ala	Asn	Val	G I y 2 4 5	Lys	Gly	GIn	Pro	Ser 250	Val	Leu	GIn	Val	V a I 2 5 5	Asn	
				gag												8 1 6
Leu	Pro	He	V a I 2 6 0	Glu	Arg	Pro	Val	Cys 265	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg 270	Пе	Arg	
				atg												8 6 4
He	Thr	Asp 275	Asn	Met	Phe	Сус	A I a 2 8 0	Gly	Tyr	Lys	Pro	Asp 285	Glu	Gly	Lys	
				tgt												9 1 2
Arg	2 9 0	A S D	AIA	Суѕ	บ I U	61 y 295	A S D	AIA	G I Y	ъIУ	3 0 0	rne	val	мет	LУS	
				a a c												9 6 0
Ser 305	Pr0	r h e	Asn	Asn	Arg 310	lrp	lyr	GIn	Met	G I y 3 1 5	116	v a I	Ser	lrp	G 1 y 3 2 0	
				C g g												1 0 0 8
6 I u	GIY	САЗ	Asp	Arg	Asp	Gly	Lуs	Iуr	GIY	rhe	Iуr	Ihr	H 1 S	val	Рhе	

	ctg Leu														t a g	1056
< 2 1 0 < 2 1 1 < 2 1 2 < 2 1 3	1 > 3 2 > F	10 351 PRT Homo	sap	i e n s												
< 4 0 ( M e t l	) > 1 A 1 a	l0 His	V a 1	Arg 5	G 1 y	L e u	Gln	Leu	P r o	Gly	Суѕ	L e u	Ala	L e u 1 5	Ala	
Ala	Leu	Суѕ	S e r 2 0	Leu	V a l	His	Ser	G 1 n 2 5	His	Val	P h e	Leu	A 1 a 3 0	Pro	Gln	
Gln	Ala	Arg 35	Ser	Leu	Leu	Gln	Arg 40	Val	Arg	Arg	Thr	A 1 a 4 5	Thr	Ser	Glu	
Tyr	G 1 n 5 0	Thr	Phe	Phe	Asn	Pro 55	Arg	Thr	P h e	G 1 y	S e r 6 0	G 1 y	Glu	Ala	Asp	
C y s 6 5	Gly	Leu	Arg	Pro	L e u 7 0	P h e	Glu	Lys	Lys	S e r 7 5	Leu	Glu	Asp	Lys	T h r 8 0	
	Arg			8 5					9 0					9 5		
	Asp		100					105					110			
	Ser	115					1 2 0					1 2 5				
	V a 1 1 3 0					1 3 5					1 4 0					
1 4 5	Phe				150					155					1 6 0	
	Arg			165					170					175		
	Ile Leu		180					185					190			
	Val	195					2 0 0					2 0 5				
	2 1 0 T y r					2 1 5					2 2 0					
2 2 5	Ala				2 3 0					2 3 5					2 4 0	
	Pro			2 4 5					250					2 5 5		
	Thr		260					265					270			
	G 1 y	2 7 5					280					285				
	2 9 0 P r o					295					3 0 0					

3 0 5 G 1 u	G 1 y	Суѕ	Asp Ara		ly Lys	Tyr Gly 330	3 1 5 P h e	Tyr Th	r His	V a 1	3 2 0 P h e	
Arg l	Leu	Lys	Lys Tri 340	lle G	ln Lys	V a 1	Asp	Gln Ph	e Gly 350	Glu		
< 2 1 0 2 < 2 1 1 2 < 2 1 2 2 < 2 1 3 2 < 2 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1 3 2 < 3 1	> [	1 1 1 0 5 6 O N A H o m o	s a p i e n s	S								
< 2 2 0 2 < 2 2 1 2 < 2 2 3 2 < 2 2 3 2 < 2 2 3 2 < 2 2 3 2 < 2 2 3 2 < 2 2 3 2 < 2 3 2 < 2 3 2 < 2 3 2 < 2 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 < 3 2 <	> ( >	CDS (1)	(1056)									
< 4 0 0 0			ate ea	n aac t	ta coa	cta cct		tac ct	a a e e	e t a	a e t	48
						ctg cct Leu Pro						10
gcc			age et			cag cat Gln His					-	96
			tcg cta			gtc cgg Val Arg			с асс	agt Ser		4 4
		$a\mathrel{c} t$		e Asn P	cg agg	acc ttt Thr Phe		tcg gg		g c a A 1 a		92
tgt.	ggg			t ctg t	tc gag	aag aag Lys Lys		ctg ga			a c c 2 4 T h r 8 0	4 0
						atc gac Ile Asp 90						88
						cct tgg Pro Trp 105						36
						ggg gcc Gly Ala			e Ser	g a c A s p		8 4
Trp				a Ala H		ctc ctg Leu Leu						3 2
						gtg cgc Val Arg					с g с А r g 1 6 0	8 0
				g Asn I		aag ata Lys Ile 170					atc 52	28

						a a c A s n										5 7 6
1 1 1	110	1112	180	11.1.5	1 1 1	11 5 11	1 1 Þ	185	oru	11 2 11	Lcu	изр	190	изр	110	
						a a g										6 2 4
Ala	Leu		Lys	Leu	Lys	Lys		V a l	Ala	Phe	Ser		Туr	Пlе	His	
		195					200					2 0 5				a = a
	gtg					agg										6 7 2
Pro	V a 1 2 1 0	Суѕ	Leu	Pro	Asp	Arg 215	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser 220	Leu	Leu	Gln	Ala	
		2 2 4		e a a	a t a		a a e	t a a	a a e	2.2.0		2 2 4	a o a	0.00	t a a	7 2 0
gga						aca Thr										1 2 0
225	1 ) 1	Гіз	UIY	AIG	230	1 11 1	UIY	111	Uly	235	Ltu	ГЪЗ	Ulu	1 11 1	240	
	a c c	226	σt t	a a t		ggg	cao	C $C$ $C$	a o t		c t a	cao	a t a	a t a	a a c	768
						g g g								Val		7 0 0
1 11 1	лια	V 2 II	vai	245	гіэ	GIŞ	GIII	110	250	v a i	LСu	OIII	v a 1	255	ИЭП	
ctg	ссс	a t t	gtg	gag	Сдд	ссв	gtc	t g c	aag	gac	t c c	асс	Сдд	a t c	СВС	8 1 6
						Pro										
			260					265					2 7 0			
a t c	a c t	gac	аас	a t g	t t c	t g t	g c t	g g t	t a c	aag	c c t	gat	gaa	ggg	a a a	8 6 4
Пlе	Thr	Asp	Asn	Met	Phe	Суѕ	Ala	Gly	Туr	Lys	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys	
		2 7 5					280					285				
сва	ggg	g a t	g C C	t g t	gaa	g g t	gac	a c t	ggg	gga	$C \; C \; C$	t t t	g t c	a t g	a a g	9 1 2
Arg	G 1 y	Asp	Ala	Суѕ	Glu	G 1 y	A s p	Thr	Gly	Gly	Pro	P h e	V a l	Met	Lys	
	290					295					3 0 0					
a g c	$c\ c\ c$	t t t	a a c	a a c	c g c	t g g	t a t	саа	a t g	ggc	a t c	g t c	$t\ c\ a$	t g g	g g t	960
Ser	Pro	P h e	Asn	Asn	Arg	Trp	Туr	Gln	Met	Gly	Пe	Val	Ser	Trp	Gly	
3 0 5					3 1 0					3 1 5					3 2 0	
						ggg									t t c	1008
Glu	Gly					Gly							His			
														3 3 5		
															t a g	1056
Arg	Leu	Lуs		Trp	l l e	Gln	Lys		I I e	Asp	Gln	P h e		Glu		
			3 4 0					3 4 5					350			
< 2.1	) >	1 2														
< 2.1		3 5 1														
< 2.1.3	2 > 1	PRT														
< 2 1 3	3> ]	Homo	sap	iens												
	0. \	1.0														
	) >		37 - 1	A	C 1	Ι.	C 1	1 .	n	C 1	0	τ	4.1.	1.	A 1	
	AIa	HIS	Val		GIY	Leu	GIN	Leu		GIY	СУЗ	Leu	AIa		AIa	
1	I	C	C	5	V a 1	11:.	C	C 1	10	W a 1	D l	I	4.1 a	15 D.:.	C 1	
AIa	ьеu	СУЅ		Lеи	v a I	His	5 e r		Н1 \$	val	rne	Lеи		r <b>r</b> 0	6 I N	
( 1 <u>.</u>	λ1.	۸ ~	20	I	I	ſ 1 <u>~</u>	۸ ~	25 V o 1	۸ ~	Λ ~	ፐዬ	A 1 ^	3 () The	C ^	ſ 1	
υIП	A I a		ser	ьeu	ьeu	Gln		v a I	A I g	A I g	1 II <b>r</b>		1 II T	ser	ъIU	
Т	f 1 s	3 5 T b r	Dha	Dha	A	D	4 0 A r a	Ть.	Dh.	f 1	C ^ =	45	ſ1	A 1 A	A	
1 Y [	5 0	1 11 1	тпе	тпе	W ? II	Pro 55	AIS	1 11 [	тпе	υIÿ	5 e r 6 0	υIÿ	ษาแ	AId	W ? b	
Cvo		I Δ 11	Δια	Pro	Ι Δ 11	ээ Phe	6.1 0	Lve	Lve	ς <sub>Δ</sub> ,		6.1 0	Acn	Lvc	Thr	
6 5	UI ў	ьcu	ЛІБ	110	те u 7 0	1 11 5	σιu	г12	г 12	5 e i	ьeu	υIU	чэh	г 12	8 0	
V U					1 V					1 0					O V	

```
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
                      9 0
                8 5
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
           1 0 0
                      1 0 5
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
                           120
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
                       135
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
1 4 5
                    150
                                        155
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                165
                                    170
Tyr lle His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp lle
                 185
            180
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
                            2 0 0
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
                       2 1 5
                                             2 2 0
    2 1 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
                    230
                                        235
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
                2 4 5
                                    250
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
            260
                                265
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
        2 7 5
                            280
                                                285
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Thr Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
    290
                        295
                                             300
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
                    3 1 0
                                         3 1 5
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                                    3 3 0
                3 2 5
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
            3 4 0
                                3 4 5
< 2 1 0 > 1 3
<211> 1056
< 2 1 2 >
      DNA
< 2 1 3 >
      Homo sapiens
< 2 2 0 >
<221> CDS
< 2 2 2 >
      (1)...(1056)
< 2 2 3 >
< 4 0 0 > 1 3
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
                                    1 0
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
```

4.8

Ala	Leu	Суѕ	S e r 2 0	Leu	V a l	H i s	Ser	G 1 n 2 5	His	V a l	P h e	Leu	A 1 a	Pro	Gln		
			t c g					g t c					асс	agt Ser		1 4 4	
		a c t					agg					gga		g c a A l a		192	
	g g g					t t c					c t g			a a a L y s		2 4 0	
gaa					g a a					ggg				gag Glu 95	g g C	288	
				a t c										t t c P h e		3 3 6	
			сав					g g g					a g t	g a c A s p		3 8 4	
		$\mathfrak{c}$ t $\mathfrak{c}$					t g c					ссс		g a c A s p		4 3 2	
	t t c					c t t					g g C			t c c S e r		4 8 0	
аса					аас					$t \ c \ c$				a a g L y s 1 7 5	a t c	5 2 8	
				a g g					gag					a a c A s n		5 7 6	
			a a g					g t t					t a c	att Ile		6 2 4	
		t g t					gag					t t g		cag Gln		672	
	t a c					a c a					c t g			a c g T h r		7 2 0	
аса					a a g					g t c				gtg Val 255	a a c	768	
				gag					a a g					a t c		8 1 6	
			a a c					g g t					gaa	ggg Gly		8 6 4	

290	cga ggg gat Arg Gly Asp							
310   315   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320	290 agc ccc ttt	aac aac	295 cgc tgg	tat caa	atg ggc	3 0 0 a t c g t c	t c a t g	g ggt 960
Color   Colo	3 0 5		3 1 0		3 1 5			3 2 0
Arg Leu Lys Lys Trp   Ile   Gln   Lys   Val   Ile   Asp   Gln   Phe   Gly   Glu		Asp Arg			Gly Phe		His Va	l Phe
C212		Lys Trp		Lys Val			G 1 y G 1	
A	< 2 1 1 > 3 5 1							
Met	< 2 1 3 > Homo	sapiens						
Ala   Leu   Cys   Ser   Leu   Val   His   Ser   Gln   His   Val   Phe   Leu   Ala   Pro   Gln   Gln   Ala   Ala   Pro   Gln   Ala   Ala   Ala   Pro   Gln   Ala   Ala			Gly Leu			Cys Leu		
Type   Signature   Signature	Ala Leu Cys	Ser Leu	Val His	Ser Gln		Phe Leu	Ala Pr	
Solution   Solution		Ser Leu	Leu Gln		Arg Arg		Thr Se	r Glu
Ser   Asp   Ala   Glu   Leu   Glu   Ser   Tyr   Tyr   Gln   Arg   Glu   Arg   Glu   Glu		Phe Phe		Arg Thr	Phe Gly		Glu Al	a Asp
Ser   Asp   Ala   Glu   Ile   Gly   Met   Ser   Pro   Trp   Gln   Val   Met   Leu   Phe   Arg   110	6 5		7 0		7 5			8 0
Lys   Ser   Pro   Gln   Glu   Leu   Leu   Cys   Gly   Ala   Ser   Leu   Ile   Ser   Asp   Arg   125     Trp   Val   Leu   Thr   Ala   Ala   His   Cys   Leu   Leu   Tyr   Pro   Pro   Trp   Asp   Lys   140     Asn   Phe   Thr   Glu   Asn   Asp   Leu   Leu   Val   Arg   Ile   Gly   Lys   His   Ser   Arg   160     Thr   Arg   Tyr   Glu   Arg   Asn   Ile   Glu   Lys   Ile   Ser   Met   Leu   Glu   Lys   Ile   170     Tyr   Ile   His   Pro   Arg   Tyr   Asn   Trp   Arg   Glu   Asn   Leu   Asp   Arg   Asn   Ile   190     Ala   Leu   Met   Lys   Leu   Lys   Lys   Pro   Val   Ala   Phe   Ser   Asp   Tyr   Ile   His   190     Pro   Val   Cys   Leu   Pro   Asp   Arg   Glu   Thr   Ala   Ala   Ser   Leu   Leu   Glu   Lys   Ile   190     Pro   Val   Cys   Leu   Pro   Asp   Arg   Glu   Thr   Ala   Ala   Ser   Leu   Leu   Glu   Ala   Ala   Leu   Lys   Ile   Il		8 5			9 0		95	
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys  Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg 145  Tyr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Syr Arg Asp Ile 160  Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Lys Ile 160  Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Asp Ile 185  Tyr Ile His Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His 195  Tyr Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His 210  Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Jara Ala Ser Leu Lys Glu Thr Trp 225		1 0 0		105			1 1 0	
Asn   Phe   Thr   Glu   Asn   Asp   Leu   Leu   Val   Arg   Ile   Gly   Lys   His   Ser   Arg   145     Thr   Arg   Tyr   Glu   Arg   Asn   Asp   Leu   Lys   Ile   Ser   Met   Leu   Glu   Lys   Ile   175     Tyr   Ile   His   Pro   Arg   Tyr   Asn   Trp   Arg   Glu   Asn   Leu   Asp   Arg   Arg   Arg   Ile   180     Ala   Leu   Met   Lys   Leu   Lys   Lys   Pro   Val   Ala   Phe   Ser   Asp   Tyr   Ile   His   195     Pro   Val   Cys   Leu   Pro   Asp   Arg   Glu   Thr   Ala   Ala   Ser   Leu   Leu   Glu   Ala   Ala   215     Gly   Tyr   Lys   Gly   Arg   Val   Thr   Gly   Trp   Gly   Asn   Leu   Lys   Glu   Thr   Trp   240     Cys   Cys   Cys   Cys   Cys   Cys   Cys   Tyr   Cys   Cys	1 1 5			1 2 0		1 2 5		
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile	1 3 0		1 3 5			1 4 0		
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asn Ile 180	1 4 5		150		155			1 6 0
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His 195  Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala 210  Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr 235  Tyr Lys Gly Arg 230  Tyr 240		165			170		1 7	5
195       200       205         Pro       Val       Cys       Leu       Pro       Asp       Arg       Glu       Thr       Ala       Ala       Ser       Leu       Leu       Gln       Ala         210       210       215       220       220       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200       200		180		185			190	
210 215 220 Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp 225 230 240	1 9 5			2 0 0		2 0 5		
2 2 5 2 3 0 2 3 5 2 4 0	2 1 0		2 1 5			2 2 0		
	2 2 5		2 3 0		2 3 5			2 4 0

				2 4 5					250					255		
Leu	Pro	o Ile	V a 1 2 6 0	Glu	Arg	Pro	V a l	C y s 2 6 5	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg 270	I 1 e	Arg	
I l e	Thi	r Asp 275	Asn	Met	P h e	Суѕ	A 1 a 2 8 0	Gly	Tyr	Lys	Pro	Asp 285	Glu	G 1 y	Lys	
Arg	G 1 y 2 9 (	y Asp )	Ala	Суѕ	Glu	A 1 a 2 9 5	Asp	Ala	Gly	Gly	Pro 300	Phe	V a l	Met	Lys	
S e r 3 0 5		Phe	Asn	Asn	Arg 310	Trp	Туr	Gln	Met	G l y 3 l 5	I I e	V a l	Ser	Trp	G 1 y 3 2 0	
Glu	G 1 :	y Cys	Asp	Arg 325	Asp	Gly	Lys	Туr	G 1 y 3 3 0	P h e	Туr	Thr	His	V a 1 3 3 5	P h e	
Arg	Leı	ı Lys	L y s 3 4 0	Trp	Ile	Gln	Lys	V a 1 3 4 5	Ile	Asp	Gln	Phe	G 1 y 3 5 0	Glu		
< 2 1 < 2 1		1 5 1 0 5 6														
< 2 1		DNA														
< 2 1		Homo	sapi	iens												
< 2 2	0 >															
< 2 2		CDS														
< 2 2		(1)	(105	56)												
< 2 2	3 >															
< 4 0	0 >	15														
		g cac														4 8
Met 1	Ala	a His	V a l	Arg 5	Gly	Leu	Gln	Leu	Pro 10	Gly	Суѕ	Leu	Ala	Leu 15	Ala	
	cts	gtgt	agc		gtg	сас	agc	сая		gtg	t t c	ctg	gct		сад	9 6
		ı Cys														
			2 0					2 5					3 0			
саа	gca	a cgg	t c g	c t g	$\mathfrak{c}$ t $\mathfrak{c}$	сав	Сдд	g t c	Сдд	сва	асс	gcc	асс	a g t	gag	1 4 4
Gln	Ala	Arg 35	Ser	Leu	Leu	Gln	Arg 40	V a l	Arg	Arg	Thr	A 1 a 4 5	Thr	Ser	Glu	
t a c	са	g act	t t c	t t c	a a t	ССВ	agg	асс	t t t	g g c	t c g	gga	gag	gca	gac	192
Туr	Gli	n Thr	P h e	P h e	Asn	Pro	Arg	Thr	P h e	Gly	Ser	Gly	Glu	Ala	Asp	
	5 0					5 5					6 0					
t g t		gctg														2 4 0
Суѕ	G 1 3	y Leu	Arg	Pro		P h e	Glu	Lys	Lys		Leu	Glu	Asp	Lys		
6 5			. 1 .		7 0	4	1			7 5					8 0	0.0.0
gaa															ggc	288
ътu	. A I {	g Glu	Leu	ьеи 85	GIU	261	IУГ	116	9 0	GIŞ	Arg	116	v a i	9 5	GIY	
t c g	gai	t gca	ggg		a a c	atσ	t c a	cct		cag	g t g	a t ø	ctt		Caa	3 3 6
Ser		Ala														000
. • •			100	- • •	,	•	• •	105	P		- •	• •	110		9	
a a g	a g t	t ccc		gag	c t g	c t g	t g t		gcc	авс	c t c	a t c		gac	Свс	3 8 4
Lys	Sei	r Pro	G 1 n	Glu	Leu	Leu	C y s 1 2 0	G 1 y	Ala	Ser	L e u	II e 125	Ser	Asp	Arg	
t g g	g t (	cctc	асс	g c c	g c c	сас		c t c	c t g	t a c	ссв		t g g	gac	a a g	4 3 2

Trp	V a l	Leu	Thr	Ala	Ala	His 135	Суѕ	Leu	Leu	Туr	Pro 140	Pro	Trp	Asp	Lуs	
аас		асс	σησ	aat	σας		c t o	στσ	coc	a t t		α α σ	C 2 C	t c c	CGC	480
		Thr														100
145	1 11 6	1 11 1	Glu	V 2 II	150	Lсu	Lсu	v a 1	ЛІБ	155	Ulj	Гјз	11 1 3	n c i	160	
	0 0 0		<i>« o «</i>	2 " 0			<b></b>		0 + 0		0 + 0	+ + "		0.0.0		E 1 0
		tac														5 2 8
ınr	Arg	Tyr	GIU	Arg 165	ASII	1 1 e	GIU	Lys	1 7 e	Ser	меι	Leu	GIU	Lys 175	1 1 e	
t a c	a t o	сас	$C \; C \; C$	agg	t a c	аас	tgg	Сдд	gag	аас	c t g	gac	Сдд	g a c	a t t	5 7 6
Туr	116	His	Pro	Arg	Туr	Asn	Trp	Arg	Glu	Asn	Leu	Asp	Arg	Asp	I 1 e	
			180					185					190			
gcc	cts	atg	aag	ctg	aag	aag	cct	gtt	д с с	t t c	a g t	gac	t a c	a t t	сас	6 2 4
		Met														
		195	_, _			_, _	200					205				
cct	g t g		ctg	ССС	gac	agg		2 C g	g C A	g C C	200		ctc	сав	g c t	672
		Суѕ														0.1.5
110	210		Lcu	110	пор	215	oru	1 11 1	71 I u	71 T a	2 2 0	ьси	ьси	0111	n i u	
gga					a t a		a a c	t a a	a a c	116		2 2 6	nnn	асв	t a a	7 2 0
		Lys														1 2 0
	1 ) 1	Г й 2	GIY	AIg		1 11 1	GIŞ	Пр	GIJ		Leu	ГЪР	GIU	1 11 1		
2 2 5			4 4	4	2 3 0					2 3 5	. 4				2 4 0	7.0
		a a c													a a c	7 6 8
lhr	A I a	Asn	v a i		Lys	GIY	GIN	Pro		vai	Leu	GIN	v a I		Asn	
				2 4 5					250					2 5 5		
		att														8 1 6
Leu	Pro	I I e		Glu	Arg	Pro	Val		Lуs	Asp	Ser	Thr		Пlе	Arg	
			260					265					270			
a t c	a c t	gac	a a c	a t g	t t c	t g t	gct	g g t	t a c	a a g	c c t	g a t	gaa	ggg	a a a	8 6 4
Пе	Thr	Asp	Asn	Met	P h e	Сус	Ala	Gly	Туr	Lys	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys	
		275					280					285				
сва	g g g	gat	gcc	t g t	gaa	ggt	g a c	g t t	ggg	gga	$C \; C \; C$	t t t	g t c	a t g	a a g	9 1 2
Arg	Gly	Asp	Ala	Cys	Glu	G 1 y	Asp	Val	Gly	Gly	Pro	Phe	V a l	Met	Lys	
	290					295					3 0 0					
a g c	000	ttt	аас	аас	свс	t g g	t a t	саа	a t g	ggc	a t c	g t c	t c a	t g g	ggt	960
Ser	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Туr	Gln	Met	Gly	Пlе	Val	Ser	Trp	G 1 y	
3 0 5					3 1 0					3 1 5					3 2 0	
	gg(	tgt	gac	Сдд	gat	ggg	a a a	t a t	ggc	t t c	t a c	аса	cat	gtg	t t c	1008
		Суѕ												Val		
014	V.,	0,5	р	3 2 5	11 5 P	0.,	Б,5	.,.	3 3 0	1 11 0	. , .		11 1 5	3 3 5	0	
coc	cto	aag	2 2 0		a f a	cao	α α σ	g t c		σat	cao	t t t	σσα		t a g	1056
		Lys													ιαδ	1000
1118	ьсс	ГГ	340	1 1 p	110	0111	Гίз	3 4 5	110	пор	0111	1 11 0	350	Olu		
			0 T V					υfJ					UUV			
Z917	1 \	1 6														
< 2.1 (		16														
< 2.1		351														
< 2 1 2		PRT														
< 2.1.3	5 /	Homo	sap	1 e n s												
< 4 0 (	) >	16														

Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala

1 0

Ala	Leu	Суѕ	Ser	Leu	V a l	His	Ser	Gln	His	V a l	Phe	Leu	Ala	Pro	Gln
			2 0										3 0		
£ 1 n	A 1 a	Δra		Leu	I Δ 11	C. L.n.	Ara							Car	£ 1 n
GIII	ΑΙα												1 11 1	261	GIU
_		3 5					4 0					4 5			
Туr	Gln	Thr	Phe	Phe	Asn	Pro	Arg	Thr	P h e	Gly	Ser	Gly	Glu	Ala	Asp
	5 0					5 5					6 0				
Cvs	Gly	Leu	Arg	Pro	Leu	Phe	Glu	Lvs	Lvs	Ser	Leu	Glu	Asp	Lvs	Thr
6 5	•									7 5			•	- •	8 0
	Λ	ſ 1 n									1 - 0	Ιlο	V a 1	£ 1	
GIU	AIg	ъги	Leu	Leu											GIY
				8 5										95	
Ser	Asp	Ala	Glu	Пlе	Gly	Met	Ser	Pro	Trp	Gln	Val	Met	Leu	Phe	Arg
			100					105					1 1 0		
Lys	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Leu	Cys	Gly	Ala	Ser	Leu	I 1 e	Ser	Asp	Arg
- •		115										1 2 5		•	
Т " "	V o 1			Ala									Тър	Aon	Luc
=	Val	Leu										110	Пр	A S b	L ) 2
	1 3 0														
Asn	Phe	Thr	Glu	Asn	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	Пe	Gly	Lуs	His	Ser	Arg
145					150					155					160
Thr	Arg			Arg										Lys	I 1 e
		•		165											
Т т г	I I o	Ц;	Dro												Llo
1 9 1	116	П 1 2		Arg										A S p	116
			180												
Ala	Leu	Met		Leu				V a l	Ala	P h e	Ser	Asp	Туr	Пe	His
		195					200					205			
Pro	V a l	Cvs		Pro				Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Leu	Gln	Ala
	2 1 0	•			•										
(° 1 v		Lvo	ſ 1 w	Arg								Lvc	f 1 n	The	Тип
2 2 5					2 3 0										2 4 0
Thr	Ala	Asn	V a I	Gly	Lуs	G I y	GIn	Pro	Ser	V a I	Leu	GIn	V a I	V a I	Asn
				2 4 5					250					255	
Leu	Pro	Ile	V a l	Glu	Arg	Pro	V a l	Суѕ	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg	Пe	Arg
			260					265					270		
ΠP	Thr	Asn		Met	Phe	Cvc	Ala		Tvr	Lvc	Pro	Acn		(, 1 v	Lvc
110	1 11 1	275	11 5 11	IVI C C	1 11 0	0,5	280	01,	1 ; 1	Ц	110	285	oru	01,	Бјз
	C 1		۸.1	0	C 1	C 1		. 1	C 1	C 1	n		17 1	M	
Arg		Asp	Ala	Суѕ	ьIu				6 I y	GIÿ		rhe	v a I	меt	Lys
	290					295					3 0 0				
Ser	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Туr	Gln	Met	Gly	I 1 e	V a l	Ser	Trp	Gly
3 0 5					3 1 0					3 1 5					3 2 0
	G l v	Cvs	Asn	Arg	Asn	G l v	Lvs	Tvr	(, 1 v		Tvr	Thr	His	V a 1	Phe
Jiu	U 1 J	د ر ټ	'roh	3 2 5	iro h	V 1 J		1 , 1	3 3 0		1 1 1		1110	3 3 5	0
A	1	1	1		11.	C 1							C 1		
Arg	Leu	Lys		Trp	1 I e	6 I N	LŊS		1 1 e	A S D	GIN	rne		6 I U	
			3 4 0					3 4 5					3 5 0		
< 2.1	) >	1 7													
< 2.1		1056													
< 2 1 3		D N A													
/ 0 1 4	ا > د ا > (	Unna Unna	000	: . n -											

< 2 2 0 >

<221> CDS

<213> Homo sapiens

< 4 0 (	) >	1 7														
a t g	gcg	сас	g t c	сва	g g c	t t g	сав	c t g	$c\ c\ t$	ggc	t g c	c t g	gcc	c t g	gct	48
Met	Ala	His	V a l	Arg	Gly	Leu	Gln	L e u	Pro	Gly	Cys	L e u	Ala	L e u	Ala	
1				5					1 0					15		
													gct			9 6
Ala	Leu	Суѕ		Leu	Val	His	Ser		His	V a I	Phe	Leu	Ala	Pro	GIn	
			2 0	. 4				25					3 0			1 4 4
													a c c T h r			1 4 4
GIII	Ala	35	261	Leu	Lеu	GIII	A 1 g	Val	Alg	AIg	1 11 1	4 5	1 11 1	Sel	GIU	
tac	cag		t t c	t t c	aat	CCg		асс	t t t	ggc	t c g		gag	gca	gac	192
													Glu			1 ° 2
·	5 0					5 5				·	6 0	·			•	
t g t	ggg	c t g	сва	$c\ c\ t$	c t g	t t c	gag	a a g	aag	t c g	c t g	gag	gac	a a a	асс	2 4 0
Суѕ	Gly	Leu	Arg	Pro	Leu	P h e	Glu	Lys	Lys	Ser	Leu	Glu	Asp	Lys	Thr	
65					7 0					7 5					8 0	
													g t g		ggc	288
Glu	Arg	Glu	Leu		Glu	Ser	Tyr	Пе		Gly	Arg	Пlе	Val		Gly	
				8 5		,			9 0		,			9 5		0.0.0
													ctt			3 3 6
ser	ASD	Ala	100	11e	GIY	мет	Ser	105	1 r p	GIN	val	Met	L e u 1 1 0	rne	Arg	
aag	a g t	ссс	сав	gag	$\mathfrak{c}$ t g	c t g	t g t	ggg	gcc	a g c	$c\;t\;c$	$a\ t\ c$	a g t	gac	C g C	3 8 4
Lys	Ser		Gln	Glu	L e u	Leu		Gly	Ala	Ser	Leu		Ser	Asp	Arg	
		1 1 5					1 2 0					1 2 5				
t g g													t g g			4 3 2
Irp	v a 1 1 3 0	Leu	Inr	AIa	Ala	H 1 S	СУЅ	Leu	Leu	lyr	Pro 140	Pro	Trp	Asp	Lys	
a a c	t t c	асс	gag	a a t	g a c	ctt	c t g	g t g	Свс	a t t	g g C	aag	сас	t c c	СвС	480
Asn	P h e	Thr	Glu	Asn	Asp	Leu	Leu	V a l	Arg	I 1 e	Gly	Lys	His	Ser	Arg	
1 4 5					150					155					160	
a c a	agg	t a c	gag	сва	a a c	a t t	gaa	a a g	a t a	$t\ c\ c$	a t g	t t g	gaa	a a g	a t c	5 2 8
Thr	Arg	Туr	Glu		Asn	Пе	Glu	Lys		Ser	M e t	Leu	Glu		Пlе	
				165					170		,			175		5.5.0
				agg										gac		5 7 6
IУГ	116	НΙЅ	180	Arg	IУГ	ASII	ırp	Arg 185	5 I U	ASII	Leu	ASP	Arg 190	ASD	1 1 e	
g C C	c t g	atσ		ctø	aaσ	a a σ	cct		grr	t t c	aσt	gar	tac	att	cac	6 2 4
	Leu												Tyr			0 2 1
u	_ u	195	_,,	_ 0 u	נים	_ , ,	200	1	u	1 11 0	~ 0 1	205	. , 1		1110	
cct	gtg		ctg	ссс	gac	agg		a c g	gca	gcc	a g c		ctc	сав	g c t	672
													Leu			
	2 1 0					2 1 5					2 2 0					
gga	$t\ a\ c$	a a g	ggg	Сдд	g t g	аса	ggc	t g g	ggc	аас	c t g	a a g	gag	асв	t g g	7 2 0
	Tyr	Lys	Gly	Arg		Thr	Gly	Trp	Gly		Leu	Lys	Glu	Thr		
2 2 5					2 3 0					2 3 5					2 4 0	
a c a	g C C	a a c	gtt	ggt	a a g	ggg	cag	C C C	a g t	gtc	c t g	cag	gtg	gtg	аас	768

	Ala	Asn	V a l	G 1 y 2 4 5	Lys	G 1 y	Gln	Pro	Ser 250	V a 1	Leu	Gln	V a l	V a 1 2 5 5	Asn	
		att Ile	V a l	gag				Суѕ	a a g				Arg			8 1 6
	a c t T h r	g a c A s p 2 7 5									cct Pro			ggg Gly		8 6 4
		g a t A s p					gac					t t t				9 1 2
	ссс	t t t P h e				t g g					a t c				g g t G l y 3 2 0	960
g a a		t g t C y s			g a t					t t c					t t c P h e	1008
		aag Lys		t g g					a t t					gag	t a g	1 0 5 6
<pre>&lt; 2 1 &lt; 2 1 &lt; 2 1 &lt; 2 1 &lt; 2 1 </pre>	1 > 2 >	18 351 PRT Homo	sap	iens												
	0 > A 1 a															
1		ПΙЗ	V a l							Gly	Суѕ	Leu	Ala	Leu	Ala	
Ala	L e u	птѕ	Ser	5				Gln	1 0				Ala	15		
			S e r 2 0	5 L e u	V a l	H i s	Ser	G 1 n 2 5	10 His	V a l	Phe	Leu	A 1 a	15 Pro	Gln	
Gln Tyr	A 1 a G 1 n 5 0	C y s A r g 3 5 T h r	Ser 20 Ser Phe	5 Leu Leu Phe	V a l L e u A s n	His Gln Pro 55	Ser Arg 40 Arg	G 1 n 2 5 V a 1 Thr	1 0 H i s A r g P h e	Val Arg Gly	Phe Thr Ser 60	L e u A l a 4 5 G l y	Ala 30 Thr	15 Pro Ser Ala	Gln Glu Asp	
Gln Tyr Cys 65	A 1 a G 1 n 5 0 G 1 y	Cys Arg 35 Thr	Ser 20 Ser Phe	5 Leu Leu Phe Pro	Val Leu Asn Leu 70	His Gln Pro 55 Phe	Ser Arg 40 Arg	G 1 n 2 5 V a 1 T h r	10 His Arg Phe Lys	Val Arg Gly Ser	Phe Thr Ser 60 Leu	Leu Ala 45 Gly	Ala 30 Thr Glu Asp	15 Pro Ser Ala Lys	Gln Glu Asp Thr	
Gln Tyr Cys 65 Glu	Ala Gln 50 Gly Arg	C y s A r g 3 5 T h r	Ser 20 Ser Phe Arg Leu Glu	5 Leu Leu Phe Pro Leu 85	Val Leu Asn Leu 70 Glu	His Gln Pro 55 Phe Ser	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser	Gln 25 Val Thr Lys Ile	1 0 H i s A r g P h e L y s A s p 9 0	Val Arg Gly Ser 75 Gly	Phe Thr Ser 60 Leu Arg	Leu Ala 45 Gly Glu	Ala 30 Thr Glu Asp Val	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95	Gln Glu Asp Thr 80 Gly	
Gln Tyr Cys 65 Glu Ser	Ala Gln 50 Gly Arg	Cys Arg 35 Thr Leu Glu Ala Pro	Ser 20 Ser Phe Arg Leu	5 Leu Phe Pro Leu 85 Ile	V a 1 L e u A s n L e u 7 0 G 1 u	His GIn Pro 55 Phe Ser Met	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys	G 1 n 2 5 V a 1 Th r Lys I 1 e Pro 1 0 5	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp	V a 1 A r g G 1 y S e r 7 5 G 1 y	Phe Thr Ser 60 Leu Arg	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met	A 1 a 3 0 T h r G 1 u A s p V a 1 L e u 1 1 0	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe	Glu Asp Thr 80 Gly	
Gln Tyr Cys 65 Glu Ser Lys	Ala Gln 50 Gly Arg Asp	Cys Arg 35 Thr Leu Glu Ala	Ser 20 Ser Phe Arg Leu 61u 100 61n	5 Leu Phe Pro Leu 85 Ile Glu Ala	Val Leu Asn Leu 70 Glu Leu	His Gln Pro 55 Phe Ser Met Leu His	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys 120	G 1 n 2 5 V a 1 Thr Lys I 1 e Pro 1 0 5 G 1 y	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp	Val Arg Gly Ser 75 Gly Gln Ser	Phe Thr Ser 60 Leu Arg Val	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met	Ala 30 Thr Glu Asp Val Leu 110 Ser	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe	Gln Glu Asp Thr 80 Gly Arg	
Gln Tyr Cys 65 Glu Ser Lys Trp Asn 145	Ala Gln 50 Gly Arg Asp Ser Val 130 Phe	Cys Arg 35 Thr Leu Glu Ala Pro 115	Ser 20 Ser Phe Arg Leu 61u 100 Gln Thr	5 Leu Leu Phe Pro Leu 85 Ile Glu Ala Asn	V a l L e u A s n L e u 7 0 G l u C l y L e u A l a A s p 1 5 0	His Gln Pro 55 Phe Ser Met Leu His 135 Leu	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys 120 Cys Leu	Gln 25 Val Thr Lys Ile Pro 105 Gly Leu Val	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp Ala Leu	Vall Arg Gly Ser 75 Gly Gln Ser Tyr Ile 155	Phe Thr Ser 60 Leu Arg Val Leu Pro 140 Gly	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met Ile 125 Pro	Ala 30 Thr Glu Asp Val Leu 110 Ser Trp His	Ser Ala Lys Glu 95 Phe Asp Ser	Gln Glu Asp Thr 80 Gly Arg Lys Arg 160	

```
180
                              185
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
                          200
       195
                                             2 0 5
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
                     2 1 5
                                         2 2 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225
              2 3 0
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
               2 4 5
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
           2 6 0
                                                 270
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
       2 7 5
                          280
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Asp Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
                     295
                                         3 0 0
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
3 0 5 3 1 0 3 1 5
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                                 3 3 0
               3 2 5
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
                              3 4 5
                                                 3 5 0
           3 4 0
\langle 2 1 0 \rangle 1 9
<211> 1056
< 2 1 2 > DNA
<213> Homo sapiens
< 2 2 0 >
<221> CDS
\langle 222 \rangle (1).. (1056)
< 2 2 3 >
<400> 19
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
                                                                  96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
           2.0
                              25
                                                 3.0
caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag
                                                                 144
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
       3 5
                          40
                                            45
tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac
                                                                 192
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
                  5 5
                                         6.0
tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc
                                                                 2 4 0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
                  7.0
                                      7.5
                                                                 288
gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
```

				8 5					9 0					9 5		
t c g	gat	g C A	gag		a a c	a t g	t c a	cct		cag	g t g	a t g	ctt		C g g	3 3 6
							Ser									0 0 0
			100		· - ,			105	,				110		0	
aag	a g t	ссс	сав	gag	c t g	c t g	t g t	ggg	gcc	a g c	c t c	a t c	a g t	gac	свс	3 8 4
							Суѕ									
		115					1 2 0					1 2 5				
t g g	g t c	$c\;t\;c$	асс	g c c	gcc	сас	t g c	$c\ t\ c$	c t g	t a c	ссв	ссс	t g g	gac	a a g	4 3 2
Trp	V a 1	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Leu	Leu	Туr	Pro	Pro	Trp	A s p	Lys	
	1 3 0					1 3 5					1 4 0					
							c t g									4 8 0
	Phe	Thr	Glu	Asn		Leu	Leu	Val	Arg		Gly	Lуs	His	Ser		
145		4			150				,	155	,				160	<b>.</b>
							gaa									5 2 8
ınr	Arg	ıyr	6 I U	Arg 165	ASII	1 1 e	Glu	Lys	1 T e	ser	меι	Leu	GIU	Lys 175	1 1 e	
tac	atc	cac	C C C		tac	226	t g g	e a a		226	e t a	a a c	e a a		a t t	5 7 6
							Trp									J / 0
1 3 1	110	1113	180	11 1 5	1 1 1	11 5 11	11 p	185	oru	11 5 11	LСu	изр	190	изр	110	
gcc	ctg	atg		ctg	aag	aag	c c t		gcc	t t c	a g t	gac		a t t	сас	6 2 4
							Pro									
		195					200					2 0 5				
$c\ c\ t$	gtg	t g t	c t g	ссс	g a c	agg	gag	асв	g c a	g c c	a g c	t t g	$c\ t\ c$	сав	g c t	672
Pro	V a l	Суѕ	Leu	Pro	A s p	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser	L e u	L e u	Gln	Ala	
	2 1 0					2 1 5					2 2 0					
gga							g g C									7 2 0
	Туr	Lys	Gly	Arg		Thr	Gly	Trp	Gly		Leu	Lys	Glu	Thr		
2 2 5					2 3 0					235			,	,	2 4 0	7.00
							cag								a a c	7 6 8
1 11 1	Ala	A S II	val	6 I y 2 4 5	ГЯЗ	GTY	Gln	110	250	val	Leu	6 I II	val	255	A S II	
c t g	c $c$ $c$	a t t	g t g		Caa	ccg	g t c	t a c		gar	tcc	a.c.c	cgg		C g C	8 1 6
							Val									010
			260					265	-,-				270			
a t c	a c t	gac		a t g	t t c	t g t	g c t		t a c	aag	c c t	gat		ggg	a a a	8 6 4
							Ala									
		2 7 5					280					285				
сва	ggg	g a t	g C C	t g t	gaa	g g t	g a c	a a t	ggg	gga	$C \; C \; C$	t t t	g t c	a t g	a a g	9 1 2
Arg		Asp	Ala	Суѕ	Glu		Asp	Asn	Gly	Gly		P h e	V a l	Met	Lys	
	290					2 9 5					3 0 0					
							t a t									9 6 0
	Pro	Phe	Asn	Asn		lrp	Туr	GIn	Met		He	V a I	Ser	lrp		
305		+ " +	a o o	0 4 4	3 1 0		0.00	t o t		3 1 5	<b>t</b> a a	0.0.0	a a t	a + a	3 2 0	1 0 0 9
							aaa Lys									1 0 0 8
σιu	U I Y	0 y 5	чэh	3 2 5	чэh	σιÿ	г й 2	ıyl	330	1 11 6	1	1 11 1	11 1 2	335	1 11 6	
сяс	ctg	aag	aag		a t a	сая	aag	gtc		gat	сая	ttt	gga		t a g	1 0 5 6
							Lys								. + 0	• •
ŭ		•	3 4 0	•			•	3 4 5		•			3 5 0			

```
< 211>
       351
< 2 1 2 >
      PRT
< 213>
      Homo sapiens
<400> 20
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
                                     1.0
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
            2.0
                                 25
                                                      3.0
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
                             4 0
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
    5 0
                        5 5
                                             6.0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
                    7.0
                                         7.5
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
                85
                                     90
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
           100
                                105
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu lle Ser Asp Arg
                            1 2 0
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
                        135
                                             1 4 0
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
             150
                                        155
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                                     170
                165
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
                                185
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
        195
                             200
                                                 205
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
                        2 1 5
                                             2 2 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
                          2 3 5
225
        2 3 0
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
                                     250
                2 4 5
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
            260
                                 265
                                                     2 7 0
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
                            280
                                                 285
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Asn Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
                        295
    290
                                             3 0 0
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
3 0 5
                    3 1 0
                                         3 1 5
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                3 2 5
                                     3 3 0
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
            3 4 0
                                 3 4 5
                                                      350
```

< 2 1 0 >

```
< 2 1 0 > 2 1
<211> 1056
<212> DNA
<213> Homo sapiens
< 2 2 0 >
<221> CDS
< 2 2 2 >
     (1)...(1056)
< 2 2 3 >
\langle 4 \ 0 \ 0 \rangle 2 1
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
                                                                    4.8
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
               5
                          1 0
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
                                                                     96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
                               25
            2 0
                                                   3.0
caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag
                                                                    1 4 4
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
        35
                           4 ()
                                               4.5
tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac
                                                                    192
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
                       5 5
tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc
                                                                    2 4 0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
6 5 7 0 7 5
                                                                    288
gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
               8.5
                                   9.0
                                                                    3 3 6
tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
                     105
        100
                                        1 1 0
aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc
                                                                    384
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
       115
                1 2 0
tgg gtc ctc acc gcc gcc cac tgc ctc ctg tac ccg ccc tgg gac aag
                                                                    4 3 2
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
   1 3 0
                       1 3 5
aac ttc acc gag aat gac ctt ctg gtg cgc att ggc aag cac tcc cgc
                                                                    480
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
                       155
      150
aca agg tac gag cga aac att gaa aag ata tcc atg ttg gaa aag atc
                                                                    528
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                     170
               165
tac atc cac ccc agg tac aac tgg cgg gag aac ctg gac cgg aac att
                                                                    5 7 6
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asn Ile
                               185
           180
gcc ctg atg aag ctg aag aag cct gtt gcc ttc agt gac tac att cac
                                                                    6 2 4
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
```

1 9 5			2 0 0		2 0	5		
cct gtg tgt	ctg ccc	gac agg		gca gcc			cag gc	t 672
Pro Val Cys								
2 1 0		2 1 5			2 2 0			
gga tac aag	ggg cgg	gtg aca	ggc tgg	ggc aac	ctg aa	g gag	acg tg	7 2 0
Gly Tyr Lys	Gly Arg	Val Thr	Gly Trp	Gly Asn	Leu Ly	s Glu	Thr Tr	p
2 2 5		2 3 0		2 3 5			2 4	0
aca gcc aac	gtt ggt	aag ggg	cag ccc	agt gtc	ctg ca	g gtg	gtg aa	. c 7 6 8
Thr Ala Asn		Lys Gly	Gln Pro		Leu Gl	n Val	Val As	n
	2 4 5			2 5 0			2 5 5	
ctg ccc att							atc cg	
Leu Pro Ile		Arg Pro		Lys Asp	Ser Th		lle Ar	g
	260	++0 + 4+	265	+ 0 0 0 0 0		270		0.64
atc act gac lle Thr Asp							ggg aa	
275	V211 MCf	1116 632	280	Ill Fla	28		GIY LY	2
	gcc tgt	gaa ggt		999 993			atg aa	g 912
	Ala Cys							
290		295	,	· · · · · · ·	3 0 0			
agc ccc ttt	aac aac	cgc tgg	tat caa	atg ggc	atc gt	c tca	tgg gg	t 960
Ser Pro Phe	Asn Asn	Arg Trp	Tyr Gln	Met Gly	Ile Va	l Ser	Trp Gl	у
3 0 5		3 1 0		3 1 5			3 2	0
gaa ggc tgt	gac cgg	gat ggg	aaa tat	ggc ttc	tac ac	a cat	gtg tt	1 0 0 8
Glu Gly Cys		Asp Gly	Lys Tyr		Tyr Th	r His	Val Ph	. e
	3 2 5			3 3 0			3 3 5	
cgc ctg aag				att gat			gag ta	g 1056
Arg Leu Lys		lle GIn		lle Asp	GIN Ph		Glu	
	3 4 0		3 4 5			3 5 0		
< 2 1 0 > 2 2								
<211> 351								
< 2 1 2 > PRT								
	sapiens							
< 4 0 0 > 2 2								
(100)								
Met Ala His		Gly Leu	Gln Leu		Cys Le	u Ala		a
Met Ala His 1	5			1 0			15	
Met Ala His	5 Ser Leu		Ser Gln	1 0		u Ala	15	
Met Ala His l Ala Leu Cys	5 Ser Leu 20	Val His	Ser G1n 25	10 His Val	Phe Le	u Ala	15 Pro Gl	n
Met Ala His l Ala Leu Cys Gln Ala Arg	5 Ser Leu 20	Val His	Ser Gln 25 Arg Val	10 His Val	Phe Le	u Ala 30 a Thr	15 Pro Gl	n
Met Ala His l Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35	Ser Leu 20 Ser Leu	Val His Leu Gln	Ser Gln 25 Arg Val 40	10 His Val Arg Arg	Phe Le Thr Al 45	u Ala 30 a Thr	15 Pro Gl Ser Gl	n u
Met Ala His l Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr	Ser Leu 20 Ser Leu	Val His Leu Gln Asn Pro	Ser Gln 25 Arg Val 40	10 His Val Arg Arg	Phe Le Thr Al 45 Ser Gl	u Ala 30 a Thr	15 Pro Gl Ser Gl	n u
Met Ala His l Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe	Val His Leu Gln Asn Pro	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr	10 His Val Arg Arg Phe Gly	Phe Le Thr Al 45 Ser Gl 60	u Ala 30 a Thr	15 Pro Gl Ser Gl Ala As	n u p
Met Ala His l Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50 Cys Gly Leu	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro	Val His Leu Gln Asn Pro	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr	10 His Val Arg Arg Phe Gly	Phe Le Thr Al 45 Ser Gl 60	u Ala 30 a Thr	15 Pro Gl Ser Gl Ala As	n u p
Met Ala His l Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe 70	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr Glu Lys	10 His Val  Arg Arg  Phe Gly  Lys Ser 75	Phe Le Thr Al 45 Ser Gl 60 Leu Gl	u Ala 30 a Thr y Glu u Asp	15 Pro Gl Ser Gl Ala As Lys Th	n u p
Met Ala His l Cys Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50 Cys Gly Leu 65	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe 70	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr Glu Lys	10 His Val  Arg Arg  Phe Gly  Lys Ser 75	Phe Le Thr Al 45 Ser Gl 60 Leu Gl	u Ala 30 a Thr y Glu u Asp	15 Pro Gl Ser Gl Ala As Lys Th	n u p
Met Ala His l Cys Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50 Cys Gly Leu 65	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro Leu 85	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe 70 Glu Ser	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr Glu Lys Tyr Ile	10 His Val  Arg Arg  Phe Gly  Lys Ser 75  Asp Gly 90	Phe Le Thr Al 45 Ser Gl 60 Leu Gl Arg Il	u Ala 30 a Thr y Glu u Asp e Val	15 Pro Gl Ser Gl Ala As Lys Th 80 Glu Gl 95	n u p
Met Ala His l Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50 Cys Gly Leu 65 Glu Arg Glu	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro Leu Leu 85 Glu Ile	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe 70 Glu Ser Gly Met	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr Glu Lys Tyr Ile Ser Pro 105	10 His Val  Arg Arg  Phe Gly  Lys Ser 75  Asp Gly 90 Trp Gln	Phe Le Thr Al 45 Ser Gl 60 Leu Gl Arg Il Val Me	u Ala 30 a Thr y Glu u Asp e Val t Leu 110	15 Pro Gl Ser Gl Ala As Lys Th 80 Glu Gl 95 Phe Ar	n u p r y

```
1 1 5
                           1 2 0
                                              1 2 5
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
                       135
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
                   150
                               155
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
              165
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asn Ile
          180
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
       195
                           200
                                             205
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
                       2 1 5
                                          2 2 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
                   2 3 0
                            2 3 5
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
               2 4 5
                                   250
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
           260
                               265
                                                  2 7 0
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
                                              285
       2 7 5
                           280
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
                       295
                                          3 0 0
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
                   3 1 0 3 1 5
3 0 5
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
               3 2 5 3 3 0
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
                               3 4 5
           3 4 0
                                                  3 5 0
< 2 1 0 > 2 3
< 2 1 1 > 1 0 5 6
< 2 1 2 > DNA
<213> Homo sapiens
< 2 2 0 >
< 2 2 1 >
      CDS
      (1)...(1056)
< 2 2 2 >
< 2 2 3 >
<400> 23
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
                                                                   48
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
               5
                                  1.0
                                                                    96
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
                               2 5
           2 0
caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag
                                                                   1 4 4
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
       35
                           4 0
                                              45
```

t a c	сав	a c t	t t c	t t c	a a t	ссв	agg	асс	ttt	ggc	t c g	gga	gag	gca	gac	192	
Туr	Gln	Thr	P h e	P h e	Asn	Pro	Arg	Thr	P h e	Gly	Ser	Gly	Glu	Ala	Asp		
	5 0					5 5					6 0						
t g t	ggg	$\mathfrak{c}$ $\mathfrak{t}$ $\mathfrak{g}$	сва	$c\ c\ t$	$\mathfrak{c}$ t g	t $t$ $c$	gag	aag	aag	$t\ c\ g$	$\mathfrak{c}$ $\mathfrak{t}$ $\mathfrak{g}$	gag	gac	a a a	асс	2 4 0	
Cys	Gly	Leu	Arg	Pro	Leu	P h e	Glu	Lys	Lys	Ser	Leu	Glu	Asp	Lys	Thr		
6 5					7 0					7 5					8 0		
											CgC					288	
Glu	Arg	Glu	Leu		Glu	Ser	Tyr	Пе		Gly	Arg	Пе	Val		GIy		
4	t	<i>m</i> 0 0		85			+		90					95	0.00	2.2.6	
											g t g V a l					3 3 6	
n e i	лэр	ΑΙα	100	116	Uly	INICI	SCI	105	111	GIII	v a i	MCt	110	IIIC	ЛІБ		
aag	a g t	ССС		gag	ctg	ctg	t g t		gcc	agc	c t c	atc		gac	C g C	3 8 4	
											Leu					0 0 1	
_ , -		1 1 5				_ ,	1 2 0					1 2 5					
t g g	gtc	c t c	асс	g c c	gcc	сас	t g c	ctc	c t g	t a c	ссв	ссс	t g g	gac	aag	4 3 2	
Trp	V a l	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Leu	Leu	Туr	Pro	Pro	Trp	Asp	Lys		
	130					135					1 4 0						
											ggc					4 8 0	
	Phe	Thr	Glu	Asn		Leu	Leu	V a l	Arg		Gly	Lys	His	Ser			
1 4 5					150					155					1 6 0	5.0.0	
											atg					5 2 8	
lhr	Arg	lyr	6 L u		Asn	I I e	Glu	Lуs		Ser	Met	Leu	Glu		I I e		
t o o	0 t c	0.0.0	0.0.0	165	t a a	0.0.0	+ = =	0.00	170	0.0.0	c t a	a o c	0 0 0	175	0 + +	5 7 6	
											ctg Leu					0 / 0	
1 ) 1	116	11 1 5	180	AIS	1 ) 1	V 2 II	111	185	υιu	A 2 II	Lcu	дэр	190	дзр	116		
g C C	ctg	atg		ctg	aag	aag	cct		gcc	t t c	a g t	gac		att	сас	6 2 4	
											Ser					V 2 .	
		195	·		Ť	·	2 0 0					205	·				
$c\ c\ t$	gtg	t g t	c t g	ССС	gac	agg	gag	acg	gca	gcc	a g c	t t g	ctc	сав	g c t	672	
Pro	V a l	Суѕ	Leu	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Leu	Gln	Ala		
	2 1 0					2 1 5					2 2 0						
											c t g					7 2 0	
	Туr	Lуs	Gly	Arg		Thr	Gly	Trp	Gly		Leu	Lys	Glu	Thr			
2 2 5					2 3 0					2 3 5			,		2 4 0	5.0.0	
											ctg					7 6 8	
i n r	AIa	Asn	v a i		Lуs	GIY	GIN	Pro		v a i	Leu	GIN	v a i		Asn		
e t a		a t t	a t a	2 4 5	e a a	c c a	ate	tae	250	a a c	t c c	100	c a a	255	C	8 1 6	
											Ser					010	
Бой	110	110	260	0 I u	1110	110	, а 1	265	Б,5	пор	DUI	1 11 1	270	110	1116		
a t c	a c t	gac		atg	t t c	t g t	gct		t a c	aag	c c t	gat		ggg	a a a	8 6 4	
											Pro						
		2 7 5					280	•				285		-			
сва	ggg	g a t	g c c	t g t	gaa	g c t	gac	${\tt g}\ {\tt c}\ t$	ggg	gga	ссс	t t t	g t c	a t g	a a g	9 1 2	
Arg		A s p	Ala	Суѕ	Glu		A s p	Ala	Gly	Gly	Pro	P h e	V a l	Met	Lys		
	2 9 0					295					3 0 0						
											a t c					9 6 0	
S e r	rr o	r h e	Asn	Asn	Arg	lrp	Iуr	GIn	меt	GIY	I I e	v a I	5 e r	Irp	GIy		

```
3 0 5
                     3 1 0
                                          3 1 5
gaa ggc tgt gac cgg gat ggg aaa tat ggc ttc tac aca cat gtg ttc
                                                                       1008
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                3 2 5
                                     3 3 0
cgc ctg aag aag tgg ata cag aag gtc att gat cag ttt gga gag tag
                                                                     1056
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
            3 4 0
                                 3 4 5
< 2 1 0 >
      2 4
<211> 351
< 2 1 2 >
      PRT
< 2 1 3 >
       Homo sapiens
< 4 0 0 > 2 4
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
                                     1.0
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
            2 0
                                25
                                                      3.0
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
                             40
                                                  45
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
                         5 5
                                              6.0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
     7 0
                                         75
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
                8.5
                                      90
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
            100
                                 105
                                                      1 1 0
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
        1 1 5
                             120
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
    130
                         1 3 5
                                              1 4 0
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
                    150
                                         155
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                165
                                    170
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
                                 185
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
        195
                             200
                                                  2 0 5
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
                         2 1 5
                                              2 2 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
                    2 3 0
                                         235
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
                2 4 5
                                      250
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
            260
                                 265
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
        2 7 5
                             280
                                                  285
```

```
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Ala Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
                        2 9 5
    290
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
                    3 1 0
                                3 1 5
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                3 2 5
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
            3 4 0
                                 3 4 5
                                                     350
< 2 1 0 > 2 5
<211> 1056
< 2 1 2 > DNA
<213> Homo sapiens
< 2 2 0 >
<221> CDS
\langle 2 \ 2 \ 2 \rangle (1).. (1056)
< 223>
<400> 25
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
                                                                       4.8
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
                5
                                    1 0
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
                                                                       96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
            2.0
                                2.5
                                                     3.0
caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag
                                                                       1 4 4
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
                            4 0
                                                 4.5
        3 5
tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac
                                                                       192
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
    5 0
                        5 5
                                             6.0
                                                                       2 4 0
tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
                    7 0
                                         7.5
gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc
                                                                       288
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
                8.5
                                     90
                                                                       3 3 6
tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
            1 0 0
                                105
                                                                       384
aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
        115
                            1 2 0
                                                 125
tgg gtc ctc acc gcc gcc gcc tgc ctc ctg tac ccg ccc tgg gac aag
                                                                       4 3 2
Trp Val Leu Thr Ala Ala Ala Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
   130
                       135
aac ttc acc gag aat gac ctt ctg gtg cgc att ggc aag cac tcc cgc
                                                                       480
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
1 4 5
                    150
                                         155
                                                             160
```

aca agg tac	gag cga aac	att gaa aag	ata tcc atg	ttg gaa aa	gatc 528
Thr Arg Tyr	Glu Arg Asn	lle Glu Lys	lle Ser Met	Leu Glu Ly	s Ile
	165		1 7 0	1 7	5
tac atc cac	ccc agg tac	aac tgg cgg	gag aac ctg	gac cgg ga	catt 576
Tyr Ile His	Pro Arg Tyr	Asn Trp Arg	Glu Asn Leu	Asp Arg As	p Ile
	180	185		190	
gcc ctg atg	aag ctg aag	aag cct gtt	gcc ttc agt	gac tac at	t c a c 6 2 4
	Lys Leu Lys				
195		200		205	· · · · · ·
	ctg ccc gac		ora orr agr		g g c t 6 7 2
	Leu Pro Asp				
210	Lea IIo Asp	215	220	Lcu Lcu or	Π ΑΙ α
	aaa caa ata				a t a a 7 2 0
	ggg cgg gtg				
	Gly Arg Val	inr Gly Irp		Lys Glu In	
2 2 5	2 3 0		2 3 5		2 4 0
	gtt ggt aag				
Thr Ala Asn	Val Gly Lys	Gly Gln Pro			
	2 4 5		2 5 0	2 5	
ctg ccc att	gtg gag cgg	ccg gtc tgc	aag gac tcc	acc cgg at	c cgc 816
Leu Pro Ile	Val Glu Arg	Pro Val Cys	Lys Asp Ser	Thr Arg Il	e Arg
	2 6 0	265		2 7 0	
atc act gac	aac atg ttc	tgt gct ggt	tac aag cct	gat gaa gg	g a a a a 8 6 4
lle Thr Asp	Asn Met Phe	Cys Ala Gly	Tyr Lys Pro	Asp Glu Gl	у Гуѕ
2 7 5		280		285	
cga ggg gat	gcc tgt gaa	ggg gac gcc	ggg gga ccc	ttt gtc at	g a a g 9 1 2
Arg Gly Asp	Ala Cys Glu	Gly Asp Ala	Gly Gly Pro	Phe Val Me	t Lys
2 9 0		2 9 5	3 0 0		
age eee ttt	aac aac cgc	tgg tat caa	atg ggc atc	gtc tca tg	g ggt 960
Ser Pro Phe	Asn Asn Arg	Trp Tyr Gln	Met Gly Ile	Val Ser Tr	p Gly
3 0 5	3 1 0		3 1 5		3 2 0
gaa ggc tgt	gac cgg gat	ggg aaa tat	ggc ttc tac	aca cat gt	g t t c 1008
	Asp Arg Asp				
	3 2 5		3 3 0	3 3	
cec cte aae	aag tgg ata	cag aag gtc			
	Lys Trp Ile				
MIS DOG DJS	3 4 0	3 4 5	iro nop orn	350	u
	0 1 0	0.1.0		000	
< 2 1 0 > 2 6					
<210> 20 <211> 351					
<212> PRT					
	canione				
< 2 1 3 > Homo	sapiens				
< 4 0 0 > 2 6					
	Val Ara Clu	Lan Cla Lan	Pro Clu Cuo	Lan Ala La	n Ala
	Val Arg Gly	ьей отп гед			u Ald
	5 	II: - C - C1	10	15	. (1.
Ala Leu Cys	Ser Leu Val		mis vai Phė		0 6111
01 11 1	2 0	25		30	0.1
	Ser Leu Leu		Arg Arg Thr		r Glu
3 5		4 0		4 5	

Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp

```
5 0
                       5 5
                                          6 0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
                   7.0
                                      75
6.5
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
               8 5
                                   90
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
       100
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
                          1 2 0
Trp Val Leu Thr Ala Ala Ala Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
           1 3 5
                                 1 4 0
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
     150
                                      155
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                                  170
               165
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
                 185
          180
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
                           200
       195
                                              205
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
    2 1 0
                       2 1 5
                                          2 2 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
                   2 3 0
                                      2 3 5
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
               2 4 5
                                   250
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
           260
                              265
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
       2 7 5
               280
                                   285
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
                      295
                                          3 0 0
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
       3 1 0
                              3 1 5
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                                  3 3 0
               3 2 5
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
           3 4 0
                               3 4 5
                                                  350
< 2 1 0 > 2 7
<211> 1056
<212> DNA
< 2 1 3 >
     Homo sapiens
< 2 2 0 >
< 2 2 1 >
      CDS
< 2 2 2 >
      (1)...(1056)
< 2 2 3 >
```

Met	Ala	His	V a l	Arg 5	G 1 y	Leu	G 1 n	Leu	Pro 10	G 1 y	Суѕ	L e u	Ala	L e u 1 5	Ala		
	ctg Leu															9 6	
	g c a A l a		t c g					g t c					асс			1 4 4	
	cag Gln 50	a c t					agg					gga				192	
	g g g G l y					t t c					c t g					2 4 0	
g a a	aga Arg				g a a					ggg					ggc	2 8 8	
	g a t A s p			a t c					t g g					t t c		3 3 6	
	agt Ser		сав					g g g					a g t			3 8 4	
	g t c V a l 1 3 0	c t c					t g c				Pro	ссс				4 3 2	
Asn	t t c P h e				Asp	c t t				Ilе					Arg	4 8 0	
	agg A <b>r</b> g			Arg					I1e					Lys		5 2 8	
	atc Ile		Pro					Arg					Arg			5 7 6	
	ctg Leu	Met					Pro					Asp				6 2 4	
	g t g V a l					Arg					Ser					6 7 2	
Gly	2 1 0 t a c T y r				V a l					Asn					Trp	7 2 0	
	g c c A l a															7 6 8	
	ccc Pro			gag					a a g					a t c		8 1 6	

	act															8 6 4
116	Thr	2 7 5	A 2 II	Met	rne	Cys	280	GIY	1 9 1	Гйг	110	285	GIU	GIY	Г й 2	
сва	ggg	g a t	gcc	t g t	g a a	$\mathfrak{g}\mathfrak{c}\mathfrak{t}$	gac	ggg	ggg	gga	$C \; C \; C$	t t t	g t c	a t g	aag	9 1 2
Arg	Gly	Asp	Ala	Cys	Glu	Ala	Asp	Gly	Gly	Gly	Pro	P h e	V a l	Met	Lys	
	290					295					3 0 0					
a g c	c $c$ $c$	t t t	a a c	a a c	C g C	t g g	t a t	саа	a t g	ggC	a t c	g t c	t c a	t g g	g g t	960
S e r	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Туr	Gln	Met	Gly	Пе	V a l	Ser	Trp	Gly	
3 0 5					3 1 0					3 1 5					3 2 0	
g a a	ggc	t g t	g a c	C g g	g a t	ggg	a a a	t a t	ggC	t t c	t a c	a c a	c a t	g t g	t t c	1008
Glu	Gly	Сус	Asp		Asp	Gly	Lуs	Туr		Phe	Туr	Thr	His		Phe	
				3 2 5					3 3 0					3 3 5		
	ctg														t a g	1 0 5 6
Arg	Leu	Lys		Trp	Пе	GIn	Lуs		Пе	Asp	GIn	Phe		Glu		
			3 4 0					3 4 5					3 5 0			
< 2 1	۸ > ۲	2 8														
< 2 1		2 0 3 5 1														
< 2 1		PRT														
< 2 1		Homo	s a n	iens												
\ 0 1	0 / 1		вар.													
< 4 0	0 > 2	2 8														
Met	Ala	His	V a 1	Arg	Gly	Leu	Gln	Leu	Pro	G 1 y	Cys	Leu	Ala	Leu	Ala	
1				5					1 0					15		
Ala	Leu	Сус	Ser	Leu	Val	His	Ser	Gln	His	V a l	P h e	Leu	Ala	Pro	Gln	
			2 0					2 5					3 0			
Gln	Ala	Arg	Ser	L e u	Leu	Gln	Arg	V a l	Arg	Arg	Thr	Ala	Thr	Ser	Glu	
		3 5					4 0					4 5				
	Gln											G 1 y	Glu	Ala	Asp	
	5 0															
	G 1 y	Leu	Arg	Pro							Leu	Glu	Asp	Lуs		
6.5							_			7 5					8 0	
Glu	Arg	Glu	Leu		Glu	Ser	Tyr	Пе		Gly	Arg	Пе	V a I		Gly	
C			0.1	8.5	0.1		C	D	9 0	0.1	37 1	1.1	ī	9 5 D 1		
Ser	Asp	Ala		He	GIY	Met	Ser		lrp	GIn	v a I	Met		Phe	Arg	
I	C	D	100	C 1	I	Ι	C	105	41.	C	I	Ι1.	110	1	A	
Lys	Ser		6 I II	GIU	Leu	Leu		GIY	Ala	ser	Leu		ser	ASP	Arg	
Trn	V a 1	115	Тьг	A 1 a	A 1 a	Ціс	120	Lan	Lan	Тиг	Dro	125 Pro	Trn	Acn	Luc	
111	V a 1 1 3 0	Leu	1 11 1		Ald		0 ) 5	Leu	Leu	I y I	140	110	Пр	A 2 b	Г ў 2	
Δcn	P h e	Thr	6.1 n				I A 11	V a 1	Δισ	۵۱۱		Ivc	Нiс	Sar	Δισ	
145	1110			пэп			ьси			155	01)	цι	1113	DVI	160	
	Arg										Met	L e n	( <sub>r</sub> 1 n	Lvc		
1	111 6	1 1 1	JIU	165			Olu			D 0 1	171 V L	⊾∨u	JIU	175		
Tvr	I 1 e	His	Pro							Asn	Len	Asn	Arg		[ ] e	
		0	180	0	. , 1	11		185	↓ i u	11	_ 0 u	р	190	р		
Ala	L e u	Met		Len	Lvs	Lvs	Pro		Ala	Phe	Ser	Asn		I Le	His	
•	"	195	_ , =		_ , •	_ , =	200	~ ·		0	• •	205	- , *		• •	
Pro	Val		Leu	Pro	Asp	Arg		Thr	Ala	Ala	Ser		Leu	Gln	Ala	
•	2 1 0	•	-	•	•	2 1 5		-		•	2 2 0	-	-		•	
											_ •					

```
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
2 2 5
                    2 3 0 2 3 5
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
                2 4 5
                                   250
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
            260
                                265
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
        2 7 5
                            280
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Ala Asp Gly Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
    2 9 0
                        295
                                            3 0 0
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
                    3 1 0
                                        3 1 5
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                                   3 3 0
                3 2 5
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
            3 4 0
                                3 4 5
< 2 1 0 > 2 9
<211> 1056
< 2 1 2 > DNA
<213> Homo sapiens
< 2 2 0 >
<221> CDS
\langle 2 \ 2 \ 2 \rangle (1)...(1056)
< 2 2 3 >
<400>29
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
                                                                     4.8
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
               5
                                   1.0
                                                                      96
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
                                25
            2 0
caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag
                                                                     144
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
        35
                            4 0
                                                4.5
tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac
                                                                     192
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
    5.0
                        5 5
                                            6 0
tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc
                                                                     2 4 0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
6 5 7 0 7 5
                                                                     288
gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
                85
                                    9 0
tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg
                                                                     336
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
           100
                105
                                                    1 1 0
aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc
                                                                     384
```

Lys	Ser	Pro 115	Gln	Glu	Leu	Leu	C y s 1 2 0	G 1 y	Ala	Ser	Leu	I 1 e 1 2 5	Ser	Asp	Arg	
tgg	gtc	ctc	асс	д с с	gcc	сас		ctc	ctg	t a c	ссд		tgg	gac	aag	4 3 2
		Leu														
11 p	130	Воч		711 0	711 0	135	و ړ ن	ъ∘ч	Боч	. , .	140	110	111	11 5 р	ם, ם	
аас	ttc	200	σασ	aat	σας		c t σ	gtg	c a c	a t t		aag	cac	tee	coc	480
		Thr														100
145	Inc	1 11 1	Glu	л э п	150	LСu	LСu	v a ı	ЛІБ	155	O I J	Гјз	1113	501	160	
	0 " "	+ 0 0	<i>a</i> 0 <i>a</i>	0 0 0		0 + +	<i>m</i> 0 0	<i>«</i> • •	0 + 0		0 + 0	+ + ~	a o o	0.0.0		<b>L</b> 0 0
	agg							gaa							a t c	5 2 8
ınr	Arg	Tyr	GIU	Arg 165	ASI	11e	GIU	GIU	1 7 e	ser	Met	Leu	GIU	Lys 175	I I e	
t a c	a t c	сас	ссс	agg	t a c	аас	t g g	Сдд	gag	аас	c t g	gac	Сдд	аас	a t t	5 7 6
Туr	Ιlе	His	Pro	Arg	Туr	Asn	Trp	Arg	Glu	Asn	Leu	Asp	Arg	Asn	Пlе	
			180					185					190			
gcc	ctg	a t g	aag	ctg	aag	aag	c c t	gtt	gcc	t t c	a g t	gac	t a c	a t t	сас	6 2 4
		Met											Tvr	I l e	His	
	_ ,	195	_, -	_ ` "	-,-	_, -	200					205				
$\mathfrak{c} \mathfrak{c} \mathfrak{t}$	g t g	t g t	$\mathfrak{c}$ t g	c $c$ $c$	g a c	agg	gag	a c g	g c a	gcc	a g c	t t g	$c\ t\ c$	сав	g c t	672
Pro	V a l	Суѕ	Leu	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Leu	Gln	Ala	
	2 1 0					2 1 5					2 2 0					
gga	t a c	aag	ggg	Сдд	gtg	аса	ggc	t g g	ggc	аас	ctg	aag	gag	асв	t g g	7 2 0
Gly		Lys													Trp	
2 2 5		- •	•		2 3 0		•		•	2 3 5		- •			2 4 0	
	gcc	аас	gtt	g g t		ggg	cag	ccc	a g t		c t g	cag	gtg	gtg	a a c	768
		Asn													Asn	. • •
1 11 1	III u	11 5 11	, и і	2 4 5	Сјо	013	OIN	110	250	, u 1	Lvu	OIN	, a 1	255	11 5 11	
c t a	C C C	a t t	σtσ		C G G	C C G	σ t c	t o c		o a c	tcc	200	c a a	a t c	c a c	8 1 6
		I I e												I l e		010
Leu	110	116		GIU	AIg	110	v a I		Г 3 2	A 2 h	261	1 11 1		116	AIg	
	4		260	. 4	44.	44		265	4		4		270			0.6.4
		gac														8 6 4
1 I e	Thr	Asp	Asn	мет	rne	СУЅ		GIY	ıyr	Lys	Pro		6 I U	GIY	Lys	
		2 7 5					280					285				0.1.0
	ggg							gct								9 1 2
Arg		Asp	Ala	Суѕ	Glu		Asp	Ala	Gly	Gly		P h e	V a l	Met	Lys	
	290					295					3 0 0					
a g c	$C \; C \; C$	t t t	аас	аас	c g c	t g g	t a t	саа	a t g	ggc	a t c	g t c	$t \in a$	t g g	g g t	960
Ser	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Туr	Gln	Met	G 1 y	Пe	V a l	Ser	Trp	Gly	
3 0 5					3 1 0					3 1 5					3 2 0	
gaa	ggc	t g t	gac	Сgg	g a t	ggg	a a a	t a t	ggc	t t c	t a c	аса	c a t	g t g	t t c	1008
Glu	G 1 y	Суѕ	Asp	Arg	Asp	Gly	Lys	Туr	Gly	P h e	Туr	Thr	His	V a l	Phe	
				3 2 5					3 3 0					3 3 5		
свс	ctg	aag	aag	t g g	a t a	сав	aag	gtc	a t t	gat	сав	ttt	gga	gag	t a g	1056
		Lys													-	
-		٠	3 4 0	•			•	3 4 5		•			3 5 0			
			v													

<sup>&</sup>lt; 2 1 0 > 3 0

<sup>&</sup>lt; 2 1 1 > 3 5 1

 $<sup>\</sup>langle$  2 1 2  $\rangle$  PRT

<sup>&</sup>lt;213> Homo sapiens

< 4 0 (	) > :	3 0													
Met	Ala	His	V a l	Arg	Gly	Leu	Gln	Leu	Pro	Gly	Суѕ	Leu	Ala	Leu	Ala
1				5					1 0					15	
Ala	Leu	Cys	Ser	Leu	V a l	His	Ser					Leu	Ala	Pro	Gln
			2 0					2 5					3 0		
Gln	Ala	Arg					Arg	V a l	Arg	Arg	Thr	Ala	Thr	Ser	Glu
		3 5					4 0					4 5			
Туr		Thr										Gly	Glu	Ala	Asp
	5 0										6 0				
	G 1 y	Leu	Arg	Pro										Lys	
6 5															8 0
Glu	Arg	Glu	Leu												Gly
-				8 5				_						95	
Ser	Asp	Ala												P h e	Arg
				a .									110		
Lуs	Ser	Pro	GIn	Glu									Ser	Asp	Arg
σ.		115	OD 1				1 2 0			TD.		125	on.		
Trp		Leu										Pro	lrp	Asp	Lys
A	130			۸							140	I	п.	C	A
	rne	Thr									GIY	Lys			
145 The	A a		£ 1					¢ 1		155	Mat	I		Ι	160
1 11 1	Arg	Tyr		A r g											116
Т	110		D r o							A o n					I 1 o
1 9 1	116	His	180		1 9 1					A 2 II		A 2 b		H 2 II	116
A 1 a	I A 11	Met												IlΔ	Ніс
ΑΙα	ьси	195		Lси						IIIC			1 ) 1	115	11 1 3
Pro	V a 1	Суѕ											I e 11	Gln	Ala
110	210	0,5	Lcu	110	пор	215		1 11 1				ьси	ьvu	0111	71 1 U
(, 1 v		Lys	(, 1 v	Arg	Val							Lvs	G I n	Thr	Trn
2 2 5		2,,	٠.,	0	2 3 0		٠.,		·.,	2 3 5	2 0 4	2,,	• • •	• • • •	2 4 0
	Ala	Asn	Val	Gly		Gly	Gln	Pro	Ser		Leu	Gln	Val	Val	
				2 4 5	·	·			250					255	
Leu	Pro	Пе	Val	Glu	Arg	Pro	Val	Суѕ	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg	Пе	Arg
			260					265					270		
Пlе	Thr	Asp	Asn	Met	P h e	Cys	Ala	Gly	Туr	Lys	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys
		2 7 5					280					285			
Arg	G 1 y	Asp	Ala	Cys	Glu	Ala	Asp	Ala	Gly	Gly	Pro	Phe	V a l	Met	Lys
	290					295					3 0 0				
Ser	Pro	P h e	Asn	Asn	Arg	Trp	Tyr	Gln	Met	G 1 y	I 1 e	Val	Ser	Trp	Gly
3 0 5					3 1 0					3 1 5					3 2 0
Glu	Gly	Суѕ	Asp	Arg	Asp	Gly	Lys	Туr	Gly	P h e	Tyr	Thr	His	Val	P h e
				3 2 5					3 3 0					3 3 5	
Arg	Leu	Lys		Trp	Пlе	Gln	Lys		Пlе	Asp	Gln	P h e		Glu	
			3 4 0					3 4 5					3 5 0		

<210> 31
<211> 1056
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```
< 2 2 0 >
<221> CDS
\langle 222 \rangle (1).. (1056)
< 2 2 3 >
\langle 4 \ 0 \ 0 \rangle \qquad 3 \ 1
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
                                                                      4.8
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
                5
                                    1.0
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
                                                                       96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
            2.0
               2 5
caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag
                                                                      1 4 4
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
                            4 0
                                                                      192
tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
                        5 5
                                             6.0
tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc
                                                                      2 4 0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
                    7.0
                                        7.5
gaa aga gag ctc ctg gaa tcc tac atc gac ggg cgc att gtg gag ggc
                                                                      288
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr lle Asp Gly Arg lle Val Glu Gly
                85
                                    9 0
                                                                      336
tcg gat gca gag atc ggc atg tca cct tgg cag gtg atg ctt ttc cgg
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
            1 0 0
                                105
                                                     110
aag agt ccc cag gag ctg ctg tgt ggg gcc agc ctc atc agt gac cgc
                                                                      3 8 4
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
            1 2 0
       1 1 5
tgg gtc ctc acc gcc gcc cac tgc ctc ctg tac ccg ccc tgg gac aag
                                                                      4 3 2
Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
        1 3 5
aac ttc acc gag aat gac ctt ctg gtg cgc att ggc aag cac tcc cgc
                                                                      480
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
                    150
1 4 5
                                        155
aca agg tac gag cga aac att gaa aag ata tcc atg ttg gaa aag atc
                                                                      5 2 8
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                165
                           170
tac atc cac ccc agg tac aac tgg cgg gag aac ctg gac cgg gac att
                                                                      5 7 6
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
          180
                                                                      6 2 4
gcc ctg atg aag ctg aag aag cct gtt gcc ttc agt gac tac att cac
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
                            200
        195
                                                 205
cct gtg tgt ctg ccc gac agg gag acg gca gcc agc ttg ctc cag gct
                                                                      672
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
                        2 1 5
                                             2 2 0
gga tac aag ggg cgg gtg aca ggc tgg ggc aac ctg aag gag acg tgg
                                                                      7 2 0
```

G 1 y 2 2 5	Tyr	Lys	Gly	Arg	V a l 2 3 0	Thr	G 1 y	Trp	G 1 y	A s n 2 3 5	Leu	Lys	Glu	Thr	Trp 240	
a c a	gcc	аас	g t t	g g t	aag	ggg	сав	$c\ c\ c$	a g t	g t c	c t g	сав	g t g	g t g	аас	768
Thr	Ala	Asn	V a l	Gly	Lys	Gly	Gln	Pro	Ser	V a l	Leu	Gln	V a l	V a l	Asn	
				2 4 5					250					2 5 5		
	ССС						g t c							a t c		8 1 6
Leu	Pro	Пе	V a I 2 6 0	Glu	Arg	Pro	V a l	Cys 265	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg 270	Пе	Arg	
a t c	a c t	gac		atg	t t c	t g t	g c t		t a c	aag	c c t	gat		ggg	a a a	8 6 4
		Asp					Ala							Gly	Lys	
		2 7 5					280					285				
сва	ggg	$g\ a\ t$	gcc	t g t	gaa	${\tt g} \ {\tt c} \ {\tt t}$	gac	a g t	ggg	gga	$c\ c\ c$	t t t	g t c	a t g	a a g	9 1 2
Arg	Gly	Asp	Ala	Суѕ	Glu		Asp	Ser	Gly	Gly		P h e	V a l	Met	Lys	
	2 9 0					295					3 0 0					
-	CCC						tat									960
Ser	Pro	P h e	Asn	Asn		Trp	Tyr	GIn	Met		Пе	Val	Ser	Trp		
3 0 5		44			3 1 0			1.1		3 1 5	4				3 2 0	1 0 0 0
		tgt					aaa							gtg	t t c	1008
GIU	GIY	Суѕ	ASP	Arg 325	ASP	GIŞ	Lys	ΙΫ́Γ	330	rne	ΙΫ́Γ	1 11 1	ПΙЅ	V a l 3 3 5	Phe	
c o c	c t σ	aag	220		a t a	cao	a a g	g t c		σat	cao	+ + +	o o a	gag	t a g	1 0 5 6
		Lys					Lys								ιας	1000
11.1.6	ьси	Бја	3 4 0	1 1 p	110	0111	с,з	3 4 5	110	нэр	0111	1110	350	oru		
			• •													
< 21 (	) >	3 2														
		0 E 1														
< 2.1.1	>	351														
< 2 1 1 < 2 1 2		PRT														
	2> 1		sap	iens												
< 2 1 2 < 2 1 3	2> 1	PRT Homo	s a p	iens												
< 2 1 2 < 2 1 3 < 4 0 0	2> 13> 13	PRT Homo 32			Clv	LΔn	Cln	Lan	Pro	Clv	Cvc	ΙΔ11	A 1 a	LΔn	A 1 2	
< 2 1 2 < 2 1 3 < 4 0 0	2> 13> 13	PRT Homo			G l y	Leu	Gln	Leu	P r o	Gly	Суѕ	Leu	Ala	L e u 1 5	Ala	
< 2 1 2 < 2 1 3 < 4 0 0 Me t	2 > 2 > 3 > 5   5   5   5   5   5   5   5   5   5	PRT Homo 32	V a l	Arg 5					1 0					15		
< 2 1 2 < 2 1 3 < 4 0 0 Me t	2 > 2 > 3 > 5   5   5   5   5   5   5   5   5   5	PRT Homo 32 His	V a l	Arg 5					1 0					15		
< 2 1 2 < 2 1 3 < 4 0 0 Me t 1 A 1 a	2 >	PRT Homo 32 His Cys Arg	Val Ser 20	Arg 5 Leu	V a l	His	Ser Arg	G 1 n 2 5	10 His	V a 1	P h e	L e u A l a	A 1 a 3 0	15 Pro	Gln	
< 2 1 2 < 2 1 3 < 4 0 0 Me t 1 A 1 a G 1 n	2 >	PRT Homo 32 His Cys Arg 35	V a 1 S e r 2 0 S e r	Arg 5 Leu Leu	V a l L e u	His Gln	Ser Arg 40	G l n 2 5 V a l	1 0 H i s A r g	V a l A r g	Phe Thr	Leu Ala 45	A l a 3 0 T h r	15 Pro Ser	Gln Glu	
< 2 1 2 < 2 1 3 < 4 0 0 Me t 1 A 1 a G 1 n	2 >	PRT Homo 32 His Cys Arg	V a 1 S e r 2 0 S e r	Arg 5 Leu Leu	V a l L e u	His Gln Pro	Ser Arg 40	G l n 2 5 V a l	1 0 H i s A r g	V a l A r g	Phe Thr Ser	Leu Ala 45	A l a 3 0 T h r	15 Pro Ser	Gln Glu	
<pre>&lt; 2 1 2 &lt; 2 1 3 &lt; 4 0 0 Me t 1 A 1 a G 1 n T y r</pre>	2 > 3 > 3 > 3 > 3 > 3 > 3 > 3 > 3 > 3 >	PRT Homo 32 His Cys Arg 35 Thr	V a 1 S e r 2 0 S e r	Arg 5 Leu Leu Phe	V a l L e u A s n	His Gln Pro 55	Ser Arg 40 Arg	G 1 n 2 5 V a 1 T h r	10 His Arg Phe	Val Arg Gly	Phe Thr Ser 60	Leu Ala 45 Gly	Ala 30 Thr	15 Pro Ser Ala	Gln Glu Asp	
<pre>&lt; 2 1 2 &lt; 2 1 3 &lt; 4 0 0 Me t 1 A 1 a G 1 n T y r C y s</pre>	2 > 3 > 3 > 3 > 3 > 3 > 3 > 3 > 3 > 3 >	PRT Homo 32 His Cys Arg 35	V a 1 S e r 2 0 S e r	Arg 5 Leu Leu Phe	Val Leu Asn Leu	His Gln Pro 55	Ser Arg 40 Arg	G 1 n 2 5 V a 1 T h r	10 His Arg Phe	Val Arg Gly Ser	Phe Thr Ser 60	Leu Ala 45 Gly	Ala 30 Thr	15 Pro Ser Ala	Gln Glu Asp Thr	
<pre>&lt; 2 1 2 &lt; 2 1 3 &lt; 4 0 0 Me t 1 A 1 a G 1 n T y r C y s 6 5</pre>	2 > 3	PRT Homo 32 His Cys Arg 35 Thr	Val Ser 20 Ser Phe	Arg 5 Leu Leu Phe	Val Leu Asn Leu 70	His Gln Pro 55 Phe	Ser Arg 40 Arg	G 1 n 2 5 V a 1 T h r	10 His Arg Phe Lys	Val Arg Gly Ser	Phe Thr Ser 60 Leu	Leu Ala 45 Gly	Ala 30 Thr Glu Asp	15 Pro Ser Ala Lys	G 1 n G 1 u A s p T h r 8 0	
<pre>&lt; 2 1 2 &lt; 2 1 3 &lt; 4 0 0 Me t 1 A 1 a G 1 n T y r C y s 6 5</pre>	2 > 3	PRT Homo 32 His Cys Arg 35 Thr	Val Ser 20 Ser Phe	Arg 5 Leu Leu Phe	Val Leu Asn Leu 70	His Gln Pro 55 Phe	Ser Arg 40 Arg	G 1 n 2 5 V a 1 T h r	10 His Arg Phe Lys	Val Arg Gly Ser	Phe Thr Ser 60 Leu	Leu Ala 45 Gly	Ala 30 Thr Glu Asp	15 Pro Ser Ala Lys	G 1 n G 1 u A s p T h r 8 0	
<pre>&lt; 2 1 2 &lt; 2 1 3 &lt; 4 0 0 Me t 1 A 1 a  G 1 n  T y r  C y s 6 5 G 1 u</pre>	2 > 3   3   3   3   3   3   3   3   3   3	PRT Homo 32 His Cys Arg 35 Thr	Val Ser 20 Ser Phe Arg Leu	Arg 5 Leu Phe Pro	Val Leu Asn Leu 70 Glu	His Gln Pro 55 Phe Ser	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr	G 1 n 2 5 V a 1 T h r L y s	1 0 H i s A r g P h e L y s A s p 9 0	Val Arg Gly Ser 75 Gly	Phe Thr Ser 60 Leu Arg	Leu Ala 45 Gly Glu	Ala 30 Thr Glu Asp	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95	G 1 n G 1 u A s p T h r 8 0 G 1 y	
<pre>&lt; 2 1 2 &lt; 2 1 3 &lt; 4 0 0 Me t 1 A 1 a  G 1 n  T y r  C y s 6 5 G 1 u</pre>	2 > 3   3   3   3   3   3   3   3   3   3	PRT Homo 32 His Cys Arg 35 Thr Leu Glu	Val Ser 20 Ser Phe Arg Leu	Arg 5 Leu Phe Pro	Val Leu Asn Leu 70 Glu	His Gln Pro 55 Phe Ser	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr	G 1 n 2 5 V a 1 T h r L y s	10 His Arg Phe Lys Asp	Val Arg Gly Ser 75 Gly	Phe Thr Ser 60 Leu Arg	Leu Ala 45 Gly Glu	Ala 30 Thr Glu Asp	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95	G 1 n G 1 u A s p T h r 8 0 G 1 y	
<pre>&lt; 2 1 2 &lt; 2 1 3 &lt; 4 0 0 Me t 1 A 1 a  G 1 n  T y r  C y s 6 5 G 1 u  S e r</pre>	2 > 3   3   3   3   3   3   3   3   3   3	PRT Homo 32 His Cys Arg 35 Thr Leu Glu Ala Pro	Val Ser 20 Ser Phe Arg Leu Glu 100	Arg 5 Leu Leu Phe Pro Leu 85 Ile	Val Leu Asn Leu 70 Glu	His Gln Pro 55 Phe Ser Met	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys	G 1 n 2 5 V a 1 Thr Lys I 1 e Pro 1 0 5	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp	Val Arg Gly Ser 75 Gly	Phe Thr Ser 60 Leu Arg	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met	A 1 a 3 0 T h r G 1 u A s p V a 1 L e u 1 1 0	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe	Gln Glu Asp Thr 80 Gly	
<pre>&lt; 2 1 2 &lt; 2 1 3 &lt; 4 0 0 Me t 1 A 1 a G 1 n T y r C y s 6 5 G 1 u S e r L y s</pre>	2 > 3   3   3   3   3   3   3   3   3   3	PRT Homo 32 His Cys Arg 35 Thr Leu Glu Ala Pro 115	Val Ser 20 Ser Phe Arg Leu Glu 100 Gln	Arg 5 Leu Leu Phe Pro Leu 85 Ile Glu	Val Leu Asn Leu 70 Glu Leu	His Gln Pro 55 Phe Ser Met Leu	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys 120	G 1 n 2 5 V a 1 Thr Lys I 1 e Pro 1 0 5 G 1 y	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp	Val Arg Gly Ser 75 Gly Gln Ser	Phe Thr Ser 60 Leu Arg Val	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met	Ala 30 Thr Glu Asp Val Leu 110 Ser	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe	Gln Glu Asp Thr 80 Gly Arg	
<pre>&lt; 2 1 2 &lt; 2 1 3 &lt; 4 0 0 Me t 1 A 1 a G 1 n T y r C y s 6 5 G 1 u S e r L y s</pre>	2 > 3   3   3   3   3   3   3   3   3   3	PRT Homo 32 His Cys Arg 35 Thr Leu Glu Ala Pro	Val Ser 20 Ser Phe Arg Leu Glu 100 Gln	Arg 5 Leu Leu Phe Pro Leu 85 Ile Glu	Val Leu Asn Leu 70 Glu Leu	His GIn Pro 55 Phe Ser Met Leu His	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys 120	G 1 n 2 5 V a 1 Thr Lys I 1 e Pro 1 0 5 G 1 y	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp	Val Arg Gly Ser 75 Gly Gln Ser	Phe Thr Ser 60 Leu Arg Val Leu Pro	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met	Ala 30 Thr Glu Asp Val Leu 110 Ser	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe	Gln Glu Asp Thr 80 Gly Arg	
<pre>&lt;212 &lt;213 &lt;400 Met 1 Ala Gln Tyr Cys 65 Glu Ser Lys Trp</pre>	2 > 3   3   3   3   3   3   3   3   3   3	PRT Homo 32 His Cys Arg 35 Thr Leu Glu Ala Pro 115 Leu	Val Ser 20 Ser Phe Arg Leu Glu 100 Gln Thr	Arg 5 Leu Leu Phe Pro Leu 85 Ile Glu Ala	Val Leu Asn Leu 70 Glu Leu Ala	His Gln Pro 55 Phe Ser Met Leu His 135	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys 120 Cys	G 1 n 2 5 V a 1 Thr Lys I 1 e Pro 1 0 5 G 1 y Le u	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp Ala Leu	Val Arg Gly Ser 75 Gly Gln Ser Tyr	Phe Thr Ser 60 Leu Arg Val Leu Pro 140	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met Ile 125 Pro	Ala 30 Thr Glu Asp Val Leu 110 Ser	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe Asp	Gln Glu Asp Thr 80 Gly Arg Lys	
<pre>&lt;212 &lt;213 &lt;400 Met 1 Ala Gln Tyr Cys 65 Glu Ser Lys Trp</pre>	2 > 3   3   3   3   3   3   3   3   3   3	PRT Homo 32 His Cys Arg 35 Thr Leu Glu Ala Pro 115	Val Ser 20 Ser Phe Arg Leu Glu 100 Gln Thr	Arg 5 Leu Leu Phe Pro Leu 85 Ile Glu Ala	Val Leu Asn Leu 70 Glu Leu Ala	His Gln Pro 55 Phe Ser Met Leu His 135	Ser Arg 40 Arg Glu Tyr Ser Cys 120 Cys	G 1 n 2 5 V a 1 Thr Lys I 1 e Pro 1 0 5 G 1 y Le u	10 His Arg Phe Lys Asp 90 Trp Ala Leu	Val Arg Gly Ser 75 Gly Gln Ser Tyr	Phe Thr Ser 60 Leu Arg Val Leu Pro 140	Leu Ala 45 Gly Glu Ile Met Ile 125 Pro	Ala 30 Thr Glu Asp Val Leu 110 Ser	15 Pro Ser Ala Lys Glu 95 Phe Asp	Gln Glu Asp Thr 80 Gly Arg Lys	

```
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                    170
               165
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
           180
                     185
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
       195
                            200
                                                205
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
                        2 1 5
                                             2 2 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225
                    2 3 0
                                        2 3 5
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
                2 4 5
                                    250
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
            260
                                265
                                                     270
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
                            280
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Ala Asp Ser Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
    2 9 0
                       295
                                             3 0 0
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
                          3 1 5
                    3 1 0
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                        3 3 0
                3 2 5
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
            3 4 0
                                3 4 5
                                                     350
< 2 1 0 > 3 3
<211> 1056
< 2 1 2 > DNA
< 2 1 3 >
      Homo sapiens
< 2 2 0 >
< 2 2 1 >
       CDS
\langle 2 2 2 \rangle (1).. (1056)
< 2 2 3 >
<400> 33
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
                                                                       48
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
                5
                                    1.0
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
                                                                       96
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
            20
                                25
caa gca cgg tcg ctg ctc cag cgg gtc cgg cga acc gcc acc agt gag
                                                                      1 4 4
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
        3.5
                            4 0
tac cag act ttc ttc aat ccg agg acc ttt ggc tcg gga gag gca gac
                                                                      1 9 2
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
                        5 5
                                             6.0
                                                                      2 4 0
tgt ggg ctg cga cct ctg ttc gag aag aag tcg ctg gag gac aaa acc
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
```

6 5					7 0					7 5					8 0	
	aga	gag	ctc	c t g		t c c	t a c	a t c	gac		сяс	a t t	gtg	gag		288
				Leu											Gly	
				8 5					9 0					95		
$t\ c\ g$	$g\ a\ t$	gca	gag	$a\ t\ c$	ggc	a t g	$t\ c\ a$	$c\ c\ t$	t g g	сав	g t g	a t g	$c\ t\ t$	t t c	Сдд	3 3 6
Ser	Asp	Ala		Пe	Gly	Met	Ser		Trp	Gln	V a l	M e t		P h e	Arg	
			1 0 0		,			1 0 5				,	110			2.0.4
				gag Glu												3 8 4
ГЪЗ	261	115	GIII	GIU	Leu	Leu	120	GIY	Ald	261	Leu	125	261	A 2 h	AIg	
t g g	gtc		асс	g C C	gcc	gcc		ctc	ctg	t a c	ссв		tgg	gac	aag	4 3 2
				Ala												
	130					135					1 4 0					
аас	t t c	асс	gag	a a t	gac	c t t	c t g	g t g	C g C	a t t	g g C	a a g	сас	$t\ c\ c$	C g C	480
	Phe	Thr	Glu	Asn		Leu	Leu	Val	Arg		Gly	Lуs	His	Ser		
1 4 5	0 " "	+ 0 0		0 " 0	150		<i>«</i> • •	0.0.0	0 + 0	155	0 + "		<i>"</i> 0 0	0.0.	160	E 2 0
				сgа Arg											atc Ile	5 2 8
1 11 1	ЛІБ	1 ) 1	Glu	165	U 2 II	116	Glu	Гјз	170	กรเ	MCt	ьси	Glu	175	116	
t a c	a t c	сас	ссс	agg	t a c	аас	t g g	Сдд		аас	ctg	gac	Сдд		a t t	5 7 6
				Arg											I 1 e	
			180					185					190			
				c t g												6 2 4
Ala	Leu		Lys	Leu	Lys	Lys		V a l	Ala	Phe	Ser		Tyr	I I e	His	
c c t	a t a	195	c t a	0.0.0	a a c	2 4 4	200	200	a e a	a c c	200	205	c t c	c a a	a e t	672
				c c c P r o												0 1 2
110	210	0,3	ьси	110	пор	215	Olu	1 11 1	71 T W	71 1 u	2 2 0	ьси	ьси	0111	71 1 W	
gga		aag	ggg	Сдд	gtg		ggc	t g g	ggc	аас		aag	gag	асв	t g g	7 2 0
Gly	Туr	Lys	Gly	Arg	V a l	Thr	Gly	Trp	Gly	Asn	Leu	Lys	Glu	T h r	Trp	
2 2 5					2 3 0					2 3 5					2 4 0	
				ggt												768
lhr	Ala	Asn	V a I	G 1 y 2 4 5	Lys	Gly	GIn	Pro		V a I	Leu	GIn	V a I		Asn	
cts	C	att	στσ	gag	roo	ccs	gtc	t o c	250	gar	tcc	2 C C	c o o	255 at c	свс	8 1 6
				Glu												010
			260					2 6 5		•			2 7 0			
a t c	$a\mathrel{\varepsilon} t$	gac	аас	a t g	t t c	t g t	$\mathfrak{g} \ \mathfrak{c} \ t$	g g t	$t$ a $\varepsilon$	a a g	$c\ c\ t$	g a t	gaa	g g g	a a a	8 6 4
I 1 e	Thr		Asn	Met	P h e	Суѕ		Gly	Туr	Lys	Pro		Glu	Gly	Lys	
		275					280					285	,	,		0.1.0
				tgt												9 1 2
Arg	290	ASP	Ala	Суѕ	GIU	295	ASP	GIŞ	GIY	GIŞ	300	rne	vai	меι	ГЯЗ	
agc		ttt	аас	аас	C g C		tat	саа	atg	ggc		gtc	t c a	t g g	g g t	960
				Asn												• • •
3 0 5					3 1 0					3 1 5				-	3 2 0	
gaa	ggc	t g t	gac	свв	g a t	ggg	a a a	t a t	ggc	t t c	t a c	аса	c a t	g t g	t t c	1008
Glu	Gly	Сус	Asp	Arg	Asp	Gly	Lys	Туr		P h e	Туr	Thr	His		P h e	
				3 2 5	. 1 -			1	3 3 0					3 3 5	4	1000
CgC	CIg	aag	aag	tgg	a t a	cag	aag	3 I g	att	gat	cag	111	gga	gag	t a g	1056

```
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
            3 4 0
                                 3 4 5
< 2 1 0 >
       3 4
<211>
      3 5 1
< 2 1 2 >
      PRT
< 2 1 3 >
      Homo sapiens
< 4 0 0 >
       3 4
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
                                    1 0
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
                                 25
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
                            4 0
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
    5 0
                        5 5
                                             6.0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
                    7.0
                                         7.5
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr lle Asp Gly Arg lle Val Glu Gly
                                     9.0
                85
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
            1 0 0
                                105
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
            1 2 0
        115
Trp Val Leu Thr Ala Ala Ala Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
                       135
                                             140
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
1 4 5
           150
                                   155
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                165
                                    1 7 0
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
           180
                         185
                                                     190
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
                            200
        195
                                                 205
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
    2 1 0
                        2 1 5
                                             2 2 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
225
                    2 3 0
                                         235
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
                2 4 5
                                     250
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
                                265
                                                     270
            260
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
                            280
                                                 285
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Gly Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
            2 9 5
    290
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
                    3 1 0
                                         3 1 5
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
```

	325 Lys Trp Ile 340	Gln Lys Val	330 Ile Asp Gln Ph	335 ne Gly Glu 350
<pre>&lt; 2 1 0 &gt; 3 5 &lt; 2 1 1 &gt; 1 0 5 6 &lt; 2 1 2 &gt; D N A &lt; 2 1 3 &gt; H o m o</pre>	s a p i e n s			
<220> <221> CDS <222> (1) <223>	(1056)			
Met Ala His	Val Arg Gly		cct ggc tgc ct Pro Gly Cys Le	eu Ala Leu Ala
Ala Leu Cys			10 cat gtg ttc ct His Val Phe Le	
caa gca cgg	tcs cts ctc	cag cgg gtc	cgg cga acc gc Arg Arg Thr Al	cc acc agt gag 144 a Thr Ser Glu
tac cag act		ccg agg acc		ga gag gca gac 192
tgt ggg ctg Cys Gly Leu 65			aag tog otg ga Lys Ser Leu Gl	ng gac aaa acc 240 nu Asp Lys Thr 80
Glu Arg Glu	Leu Leu Glu 85	Ser Tyr Ile	gac ggg cgc at Asp Gly Arg II 90	e Val Glu Gly 95
Ser Asp Ala	Glu Ile Gly 100	Met Ser Pro 105	tgg cag gtg at Trp Gln Val Me	et Leu Phe Arg 110
Lys Ser Pro 115	Gln Glu Leu	Leu Cys Gly 120	1 2	e Ser Asp Arg 25
Trp Val Leu 130	Thr Ala Ala	Ser Cys Leu 135	ctg tac ccg cc Leu Tyr Pro Pr 140	o Trp Asp Lys
Asn Phe Thr 145	Glu Asn Asp 150	Leu Leu Val	cgc att ggc aa Arg Ile Gly Ly 155	rs His Ser Arg 160
			ata tcc atg tt lle Ser Met Le 170	
			gag aac ctg ga Glu Asn Leu As	

Sec   cts   ats   aag   cts   aag   ats   aag   cts   ats   acc   ttc   ast   acc   ttc   act   cac			180			185					190			
Alla Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr lle His 195	gcc	ctg atg	aag ctg	aag aag	cct.	gtt	gcc	t t c	a g t	gac	t a c	a t t	сас	6 2 4
Cot   St   Cot	Ala	Leu Met	Lys Leu	Lys Lys	Pro	Val	Ala	Phe	Ser	Asp	Туr	Пe	His	
Pro		195			200					205				
210   215   220   321   320   321   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320	ссt	gtg tgt	ctg ccc	gac agg	gag	acg	gca	gcc	a g c	t t g	ctc	сав	gct	672
210   215   220   321   320   321   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320   320	Pro	Val Cys	Leu Pro	Asp Arg	Glu '	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Leu	Gln	Ala	
Cly Tyr Lys   Cly   Cl														
225	gga	tac aag	ggg cgg	gtg aca	ggc	tgg	ggc	аас	ctg	aag	gag	асв	t g g	7 2 0
The Ala Ash   Val   Gly   Lys   Gly   Gln   Pro   Ser   Val   Leu   Gln   Val   Val   Ash   245   245   255   255   245   266   275   267   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   275   27	Gly	Tyr Lys	Gly Arg	Val Thr	Gly	Trp	G 1 y	Asn	Leu	Lys	Glu	Thr	Trp	
The Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn 255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   255   25	2 2 5			2 3 0				2 3 5					2 4 0	
Care	аса	gcc aac	gtt ggt	aag ggg	сав	ссс	a g t	g t c	c t g	сав	g t g	g t g	аас	768
Color   Colo	Thr	Ala Asn	Val Gly	Lys Gly	Gln	Pro	Ser	V a l	Leu	Gln	Val	Val	Asn	
Color			2 4 5				250					255		
State   Stat	ctg	ccc att	gtg gag	cgg ccg	g t c	t g c	a a g	gac	t c c	асс	Сдд	a t c	свс	8 1 6
Second   S	Leu	Pro Ile	Val Glu	Arg Pro	Val	Суѕ	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg	Пe	Arg	
The   Thr   Asp   Asp   Asp   Met   Cys   Cys   Ata   Gly   Tyr   Lys   Pro   Asp   Glu   Gly   Lys			2 6 0			265					270			
CRA   SRE	a t c	act gac	aac atg	ttc tgt	gct.	g g t	$t\ a\ c$	aag	$c\ c\ t$	g a t	gaa	ggg	a a a	8 6 4
See	Пlе	Thr Asp	Asn Met	Phe Cys	Ala	Gly	Tyr	Lys	Pro	Asp	Glu	G 1 y	Lys	
Arg 61y Asp Ala Cys 61u 61y Asp Ala 61y 61y Pro Phe Val Met Lys 290		2 7 5			280					285				
290	сва	ggg gat	gcc tgt	gaa ggg	gac.	gcc	ggg	gga	c $c$ $c$	t t t	g t c	a t g	a a g	9 1 2
Ser	Arg	Gly Asp	Ala Cys	Glu Gly	Asp.	Ala	Gly	Gly	Pro	Phe	V a l	Met	Lys	
Ser Pro Phe Asn Asn Asn Asn Try Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly 320  8aa 88c tat 8ac css 8at 8as Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe 325  6aa 88c tat 8ac css 8at 8as 8as 108 8as 8as 1at 88c ttc 120 8ac 8ac 8at 8t 8tc 1008  6lu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe 325  6c cts aag aag tsg ata 6as 8ac 8t 8ac 8ac 8t 8ac 8t 8ac 8t		2 9 0		295					3 0 0					
310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310   310	a g c	ccc ttt	a a c a a c	cgc tgg	t a $t$	саа	a t g	ggc	a t c	g t c	$t\ \varepsilon\ a$	t g g	g g t	960
Sala	Ser	Pro Phe	Asn Asn	Arg Trp	Tyr	Gln	Met	Gly	Ile	V a l	Ser	Trp	G 1 y	
Clu   Gly   Cys   Asp   Asp   Asp   Asp   Asp   Sly   Cys   Cly   Cly   Sly   Cly   Sly   Cly   Sly	3 0 5			3 1 0				3 1 5					3 2 0	
Cgc   ctg   aag   aag   tgg   ata   cag   aag	gaa	ggc tgt	gac cgg	gat ggg	a a a	t a t	g g c	t t c	$t\ a\ c$	a c a	c a t	g t g	t t c	1008
Carr	Glu	Gly Cys		Asp Gly	Lys	Туr	Gly	P h e	Туr	Thr	His	V a l	Phe	
Arg Leu Lys Lys Trp 11e G1n Lys Val 11e Asp G1n Phe G1y G1u 350			3 2 5				3 3 0					3 3 5		
													t a g	1056
<pre></pre>	Arg	Leu Lys		lle Gln			Пe	Asp	Gln	Phe		Glu		
<pre></pre>			3 4 0			3 4 5					3 5 0			
<pre></pre>														
<pre></pre>														
<pre> <pre> <pre> <pre> <a href="text-align: left;">40 no sapiens</a></pre> </pre> <pre> <a href="text-align: left;">40 no sapiens</a> </pre> <pre> <a href="text-align: left;">40 no sapiens</a> </pre> <pre> <a href="text-align: left;">40 no sapiens</a> <a< td=""><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></a<></pre></pre></pre>														
Met         Ala         His         Val         Arg         Gly         Leu         Gln         Leu         Pro         Gly         Cys         Leu         Ala         Leu         Ala           Ala         Leu         Cys         Ser         Leu         Val         His         Ser         Gln         His         Val         Phe         Leu         Ala         Pro         Gln         Ala	< 210	5 / Homo	sapiens											
Met         Ala         His         Val         Arg         Gly         Leu         Gln         Leu         Pro         Gly         Cys         Leu         Ala         Leu         Ala           Ala         Leu         Cys         Ser         Leu         Val         His         Ser         Gln         His         Val         Phe         Leu         Ala         Pro         Gln         Ala	Z 4 0 (	1 > 26												
1       Leu Cys       Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln 25         Gln Ala Arg Ser Leu Burgh 10       Leu Ala Pro Gln 30         Tyr Gln Thr Phe So Ser Ser Leu Burgh 10       Arg Pro Arg Phe Burgh 10         Arg Ser Ser Leu Burgh 10       Arg Burgh 10         Arg Ser Ser Burgh 10       Arg Burgh 10         Arg Ser Ser Ser Burgh 10       Arg Ser			Val Ara	Cly Lou	f l n	Lan	Dro	( ) v	Cvc	I A 11	A 1 a	I a 11	A 1 a	
Ala       Leu       Cys       Ser       Leu       Val       His       Ser       Gln       His       Val       Phe       Leu       Ala       Pro       Gln         Gln       Ala       Arg       Ser       Leu       Leu       Leu       Gln       Arg       Val       Arg       Thr       Ala       Thr       Ser       Glu         Tyr       Gln       Thr       Phe       Phe       Asn       Pro       Arg       Thr       Phe       Gly       Ser       Gly       Gly       Gly       Ala       Asp       Asp         Cys       Gly       Leu       Arg       Pro       Leu       Phe       Gly       Ser       Leu       Asp       Lys       Thr         65       Frage		A 1 0 11 1 5		оту вси	GIII I			GIJ	0 3 2	ьси	Ala		ΑΙα	
Company	=	Lou Cvc	*	Val Hic	Car			V a 1	Pho	I 0 11	Ala		C l n	
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu 45  Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Asp 50  Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp 50  70 - 70 - 75 - 80	ΑΙα	ren cla		V 4 1 11 1 5			11 1 2	v a I	Inc	Leu		110	G I II	
Tyr       G1n       Thr       Phe       Asn       Pro       Arg       Thr       Phe       G1y       Ser       G1y       G1u       Ala       Asp         50       55       55       60       Evs       Ser       Leu       Asp       Lys       Thr         65       70       75       80	C. I. n	Δ1α Δησ		Lau Cln			Δισ	Δισ	Thr	Δ 1 a		Sar	C. 1 n	
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp 50	OIH		SOL DEM	Lou VIII		∗ a I	1116	игв	1 11 1		1 11 1	5 C I	viu	
50 Sys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr 70 75 80	Tvr		Phe Phe	Asn Pro		Thr	Phe	(, 1 v	Ser		(, 1 n	Ala	Asp	
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr 65 70 75 80	1 ] 1		ino ino		111 0	1		011		O I J	o r u	11 1 U	iro h	
6 5 7 0 7 5 8 0	C v s		Arg Pro		G I n	Lvs	Lvs	Ser		G I 11	Asn	Lvs	Thr	
		, 2, 4	Ų v		- ^ '	¥			- **	- **	- P	* *		
		Arg Glu	Leu Leu		Туr	Пе	Asp		Arg	Пlе	V a l	Glu		

8 5 9 0

9 5

```
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
         100
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
                        1 2 0
Trp Val Leu Thr Ala Ala Ser Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
   130 135
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
            150
                                    155
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
              1 6 5
                                170
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
                             185
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
      195
                         200
                                            205
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
                     2 1 5
                                        2 2 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
    2 3 0
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
                                250
              2 4 5
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
                 265
           260
                                                2 7 0
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
       2 7 5
                             285
                         280
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
                     295
                                        3 0 0
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305
                  3 1 0
                                    3 1 5
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                          3 3 0
              3 2 5
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
                                                350
           3 4 0
                             3 4 5
<210> 37
< 211> 1056
<212> DNA
< 2 1 3 >
      Homo sapiens
< 2 2 0 >
< 2 2 1 >
      CDS
< 2 2 2 >
     (1)...(1056)
< 223>
< 4 0 0 >
atg gcg cac gtc cga ggc ttg cag ctg cct ggc tgc ctg gcc ctg gct
                                                                4.8
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 1 0
                                                                96
gcc ctg tgt agc ctt gtg cac agc cag cat gtg ttc ctg gct cct cag
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
           2.0
                             25
                                                3.0
```

												gcc				1 4 4
		3 5					4 0					Ala 45				
	Gln					Pro					Ser	gga Gly				192
												gag				2 4 0
6 5					7 0					7 5		Glu			8 0	0.0.0
												att Ile				288
												atg Met				3 3 6
			100					105					110			
												atc Ile 125				3 8 4
		c t c					t g c					ссс				4 3 2
Trp	V a I 1 3 0	Leu	Thr	Ala	Ala	A I a 1 3 5	Суѕ	Leu	Leu	Tyr	Pro 140	Pro	Trp	Asp	Lys	
												aag Lys				4 8 0
1 4 5					150					155					1 6 0	F 0.0
												t t g L e u				5 2 8
				agg								gac				5 7 6
lyr	1 1 e	HIS	180	Arg	ıyr	ASII	irp	Arg 185	GIU	ASII	Leu	Asp	Arg 190	ASD	1 1 e	
												gac Asp				6 2 4
		195					200					2 0 5				0.5.0
												t t g L e u				6 7 2
	t a c					a c a					c t g	a a g				7 2 0
G 1 y 2 2 5	Туr	Lys	Gly	Arg	V a l 2 3 0	Thr	Gly	Trp	Gly	Asn 235	Leu	Lys	Glu	Thr	Trp 240	
												cag Gln				7 6 8
				2 4 5					250					255		
			V a l					Cys				a c c T h r	Arg			8 1 6
a t c	a c t	gac	2 6 0 a a c	a t g	t t c	t g t	g c t	265 ggt	t a c	a a g	c c t	gat	270 gaa	ggg	a a a	8 6 4
I l e	Thr	Asp 275	Asn	Met	P h e	Сус	A 1 a 2 8 0	G 1 y	Туr	Lys	Pro	Asp 285	Glu	Gly	Lys	
												t t t P h e				9 1 2

```
290
                         295
                                              3 0 0
                                                                        960
ago coo ttt aac aac ogo tgg tat caa atg ggo ato gto toa tgg ggt
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
                    3 1 0
                                         3 1 5
gaa ggc tgt gac cgg gat ggg aaa tat ggc ttc tac aca cat gtg ttc
                                                                       1008
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                3 2 5
                                     3 3 0
cgc ctg aag aag tgg ata cag aag gtc att gat cag ttt gga gag tag
                                                                      1056
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
            3 4 0
                                 3 4 5
                                                      350
< 2 1 0 > 3 8
<211> 351
\langle 2 1 2 \rangle PRT
<213> Homo sapiens
< 4 0 0 > 3 8
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
                                     1.0
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser Gln His Val Phe Leu Ala Pro Gln
                                 25
            2.0
                                                      3 0
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
                             4 0
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
    5 0
                        5 5
                                              6.0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
             7 0
                                         75
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
                                    90
                85
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
                                105
Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
                  1 2 0
Trp Val Leu Thr Ala Ala Ala Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
                        135
                                             1 4 0
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
1 4 5
                    150
                                         155
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Glu Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                165
                                     1 7 0
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
            180
                                185
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr lle His
                             2 0 0
       195
                                                  2 0 5
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
                        2 1 5
                                              2 2 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
                             2 3 5
2 2 5
                2 3 0
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
                2 4 5
                                    250
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
```

			260					265					270			
I 1 e	Thr	Asp		Met	P h e	Сус	Ala		Tyr	Lys	Pro	Asp		G 1 y	Lys	
	0.1	275		0	0.1	0.1	280		0.1	0.1	D	285	17.	<b>.</b> .		
Arg	G I y 2 9 0	Asp	Ala	Суѕ	Glu	G I y 2 9 5	Asp	Ala	Gly	Gly	Pro 300	Phe	V a I	Met	Lys	
Ser		Phe	Asn	Asn	Arg		Туr	Gln	Met	Gly		V a l	Ser	Trp	Gly	
3 0 5					3 1 0	·	·			3 1 5				·	3 2 0	
Glu	G l y	Суѕ	Asp	Arg 325	Asp	Gly	Lys	Tyr		P h e	Туr	Thr	His	V a 1 3 3 5	P h e	
Arg	L e u	Lys	Lvs		I I e	G l n	Lvs	V a 1	330 11e	Asp	G 1 n	Phe	G 1 v			
		_ •	3 4 0	· ·			- •	3 4 5					3 5 0			
< 0.1.0		2.0														
< 2 1 0 < 2 1 1		3 9 1 0 5 6														
< 2 1 2		DNA														
< 2 1 3	3>	Homo	sap	i e n s												
Z 0 0 0	1															
< 2 2 0 < 2 2 1		CDS														
< 2 2 2		(1)	(10	56)												
< 2 2 3	3>															
< 4 0 0	) >	2.0														
		cac	gtc	сда	ggc	ttg	сад	ctg	c c t	ggc	tgc	ctg	g c c	ctg	gct	4 8
		His														
1				5					1 0					15		
		tgt														96
ATa	Leu	Суѕ	20	Leu	vai	ПΙЅ	261	6 I II 2 5	пις	val	rne	Leu	A 1 a	Pro	GIII	
саа	g c a	Сдд		c t g	c t c	сав	Сдд		Сдд	сва	асс	g c c		a g t	gag	1 4 4
Gln	Ala		Ser	L e u	L e u	Gln		V a l	Arg	Arg	Thr		Thr	Ser	Glu	
		35	44.				4 0	•			4	4 5			<b></b>	1.0.0
t a c T y r		act Thr														192
1 1 1	5 0	1 11 1	1110	1110	11 5 11	5 5	1118	1 11 1	1 11 0	01)	60	013	Olu	πια	пор	
t g t	ggg	c t g	сва	$c\ c\ t$	c t g	t t c	gag	a a g	a a g	t c g	c t g	gag	gac	a a a	асс	2 4 0
	G 1 y	Leu	Arg	Pro		P h e	Glu	Lys	Lys		Leu	Glu	Asp	Lys	Thr	
65	2 4 2	a 0 a	c t c	c t a	7 0	tee	t a c	a t c	a a c	75	0.00	a t t	a t a	a a a	8 0	288
		g a g Glu													ggc Glv	200
· · ·	0	· · ·	204	85	·	~ • •	. , .		9 0	V.,	0			9 5	Ÿ.,	
		gca														3 3 6
S e r	Asp	Ala		I I e	G 1 y	Met	Ser		Trp	Gln	V a l	Met		P h e	Arg	
aag	g g t	ССС	100	ggo	e f o	e t o	t o t	105	grr	200	c t c	atc	ll0 agt	gac	cor	3 8 4
	Se r													Asp		004
	•	115	- **	- **	. **	. **	120	- <b>v</b>	- <del>-</del>	•	. **	1 2 5	•	· r	- 0	
	g t c													g a c		4 3 2
Trp		L e u	Thr	Ala	Ala		Суѕ	Leu	Leu	Туr		Pro	Trp	Asp	Lуs	
	1 3 0					1 3 5					140					

						ctt										480
	P n e	lhr	Glu	Asn		Leu	Leu	v a I	Arg		Gly	Гйг	HIS	Ser		
1 4 5					150				,	155	4				160	<b>.</b>
a c a						att										5 2 8
Thr	Arg	Tyr	Glu		Asn	Пе	Glu	Lys		Ser	Met	Leu	Glu		Пlе	
				165					170					175		5.5.0
						a a c								gac		5 7 6
Tyr	Пе	His		Arg	Tyr	Asn	Trp		Glu	Asn	Leu	Asp		Asp	Пе	
			180					185					1 9 0			
						aag								att		6 2 4
Ala	Leu		Lуs	Leu	Lys	Lys		V a I	Ala	Phe	Ser		Tyr	Пе	His	
		195					200					2 0 5				
cct						agg										6 7 2
Pro		Суѕ	Leu	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala		Leu	Leu	Gln	Ala	
	2 1 0					2 1 5					2 2 0					
						a c a										7 2 0
	Туr	Lуs	Gly	Arg		Thr	Gly	Trp	Gly		Leu	Lys	Glu	Thr		
2 2 5					2 3 0					2 3 5					2 4 0	
						ggg								g t g	a a c	768
Thr	Ala	Asn	Val	Gly	Lуs	Gly	Gln	Pro	Ser	Val	Leu	Gln	Val	V a l	Asn	
				2 4 5					250					2 5 5		
$\mathfrak{c}$ t g	$C \; C \; C$	a t t	g t g	gag	Сдд	$c\ c\ g$	g t c	t g c	a a g	g a c	t c c	асс	C g g	a t c	C B C	8 1 6
Leu	Pro	Пe	V a l	Glu	Arg	Pro	V a l	Сус	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg	Пlе	Arg	
			260					265					270			
a t c	a c t	g a c	a a c	a t g	t t c	t g t	${\tt g} \ {\tt c} \ {\tt t}$	g g t	t a c	a a g	$c\ c\ t$	g a t	gaa	ggg	a a a	864
Ile	Thr	Asp	Asn	Met	P h e	Суѕ	Ala	Gly	Туr	Lys	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys	
		2 7 5					280					285				
сва	ggg	g a t	gcc	t g t	gaa	ggg	gac	gcc	ggg	gga	$c \; c \; c$	t t t	gtc	a t g	a a g	9 1 2
Arg	Gly	Asp	Ala	Суѕ	Glu	Gly	Asp	Ala	Gly	Gly	Pro	Phe	Val	Met	Lys	
	290					295					3 0 0					
a g c	$C \; C \; C$	t $t$ $t$	a a c	аас	C g C	t g g	t a t	саа	a t g	g g C	$a \ t \ c$	g t c	$t\ c\ a$	t g g	g g t	960
Ser	Pro	Phe	Asn	Asn	Arg	Trp	Tyr	Gln	Met	Gly	Пlе	V a l	Ser	Trp	Gly	
3 0 5					3 1 0					3 1 5					3 2 0	
gaa	ggc	t g t	gac	Сдд	$g \; a \; t$	ggg	a a a	t a t	ggc	t t c	$t\ a\ c$	аса	$c \; a \; t$	g t g	t t c	1008
Glu	Gly	Суѕ	Asp	Arg	Asp	Gly	Lys	Туr	Gly	P h e	Туr	Thr	His	Val	Phe	
				3 2 5					3 3 0					3 3 5		
C g C	ctg	a a g	aag	t g g	a t a	cag	a a g	g t c	a t t	g a t	cag	t t t	gga	gag	t a g	1056
Arg	Leu	Lys	Lys	Trp	I 1 e	Gln	Lys	V a l	I l e	Asp	Gln	P h e	Gly	Glu		
			3 4 0					3 4 5					3 5 0			
< 21 (	) >	4 0														
< 2 1 1	) >	3 5 1														
< 2 1 2	2> 1	PRT														
< 2 1 3	3> ]	Homo	sap	iens												
< 4 0 (	) >	4 0														
Met	Ala	His	Val	Arg	Gly	Leu	Gln	Leu	Pro	Gly	Суѕ	Leu	Ala	Leu	Ala	
1				5					1 0					15		
Ala	Leu	Суѕ	Ser	Leu	Val	His	Ser	Gln	His	V a l	Phe	Leu	Ala	Pro	Gln	
			0.0					0.5					0.0			

2 5

3 0

2 0

```
Gln Ala Arg Ser Leu Leu Gln Arg Val Arg Arg Thr Ala Thr Ser Glu
        35
                            4 0
Tyr Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp
                        5 5
                                            6 0
Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr
     7 0
                                       75
Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr lle Asp Gly Arg lle Val Glu Gly
                8.5
                                    90
Ser Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg
            1 0 0
                                1 0 5
                                                    1 1 0
Lys Ser Pro Glu Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg
        1 1 5
                            1 2 0
Trp Val Leu Thr Ala Ala Ala Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys
   130
                       1 3 5
                                            140
Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg
                    150
                                        155
Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile
                                   170
               165
Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile
                  185
           180
                                                    190
Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His
       195
                            2 0 0
                                                205
Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala
                        2 1 5
                                             2 2 0
Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp
                    2 3 0
                                        2 3 5
Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn
                2 4 5
                                    250
Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg
            260
                                265
lle Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys
        2 7 5
                            280
                                                 285
Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ala Gly Gly Pro Phe Val Met Lys
                       295
                                             3 0 0
Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly
305
                  3 1 0
                         3 1 5
Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe
                        3 3 0
                3 2 5
Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
            3 4 0
                                3 4 5
                                                     350
< 2 1 0 >
      4 1
< 2 1 1 >
      1056
< 2 1 2 >
       DNA
< 213>
      Homo sapiens
```

< 2 2 2 2 > < 2 2 3 >

< 2 2 0 > < 2 2 1 >

CDS

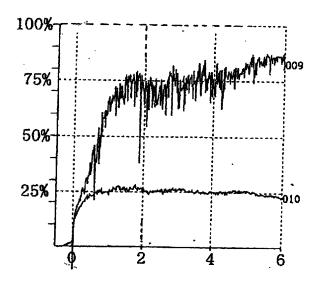
(1)...(1056)

Z 1 0 (	) \	<b>4</b> 1														
	) > _ 1		ate	c a a	u u c	t t a	c n a	c t a	c c t	a a c	tac	c t a	a c c	e t a	act	48
						ttg										4 0
lvie t l	Ald	11 1 2	v a I	A 1 g	GIY	Leu	GIII	Leu	1 0	GIY	0 ) 5	Lеи	Ald	15	Ala	
	c t o	tσt	200		στσ	сас	200	cao		σtσ	t t c	c t o	o c t		caσ	9 6
						His										<i>J</i> 0
πια	ьсu	∨ <b>,</b>	2 0	ьси	v a i	11119	501	25	11119	v a i	1 11 0	ьси	3.0	110	0111	
c a a	o c a	c o o		cto	ctc	сав	c o o		c o o	c g a	2 C C	a c c		a o t	σασ	1 4 4
						Gln										111
0111	πια	35	501	Lcu	ьсu	0111	4 0	v a i	11 1 5	11 1 8	1 11 1	45	1 11 1	501	oru	
tac	cag		t t c	t t c	aat	ссд		асс	t t t	990	t c g		gag	gca	gac	192
						Pro										1 0 2
. , .	5 0		1 11 0	1 11 0	71 5 11	5 5	111 6		1 11 0	01,	60	01,	014	711 0	71 b p	
t g t		ctg	c g a	c c t	ctg	ttc	gag	aag	aag	t c g		gag	gac	ааа	асс	2 4 0
						P h e										<b>5.</b> v
65	V.,	D o u	0		7 0	1 11 0	0.4	נים	נים	75	Воч	0.4	. 1 5 р	Б,5	8 0	
	aga	gag	c t c	ctg		t c c	t a c	a t c	gac		свс	a t t	gtg	gag		288
						Ser										
• • •	0	• • •	2 0 4	85	• • •	~ .	- , -		9 0	٠.,	0			9 5		
t c g	gat	gca	gag		ggc	a t g	t c a	c c t		сад	gtg	atg	ctt		сдд	3 3 6
						Met										
	•		1 0 0		·			105	•				110		-	
aag	a g t	ССС	сав	gag	ctg	c t g	t g t		gcc	a g c	ctc	a t c	a g t	gac	СвС	3 8 4
						Leu										
		115					1 2 0					1 2 5				
t g g	gtc	ctc	асс	gcc	gcc	сас	t g c	ctc	ctg	t a c	ссв	ссс	t g g	gac	aag	4 3 2
Trp	V a l	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Суѕ	Leu	Leu	Туr	Pro	Pro	Trp	Asp	Lys	
	130					1 3 5					1 4 0					
аас	t t c	асс	gag	a a t	gac	ctt	c t g	g t g	СвС	a t t	g g C	aag	сас	t c c	C g C	480
Asn	P h e	Thr	Glu	Asn	Asp	Leu	Leu	V a l	Arg	Пe	Gly	Lys	His	Ser	Arg	
1 4 5					150					155					160	
аса	agg	t a c	gag	сва	аас	a t t	gaa	a a g	a t a	t c c	a t g	t t g	gaa	a a g	a t c	5 2 8
Thr	Arg	Tyr	Glu	Arg	Asn	Ile	Glu	Lys	I I e	Ser	Met	Leu	Glu	Lys	I 1 e	
				165					170					175		
$t\ a\ c$	a t c	сас	c $c$ $c$	agg	$t\ a\ c$	аас	t g g	C g g	gag	аас	c t g	gac	Сдд	gcc	a t t	5 7 6
Tyr	I 1 e	His	Pro	Arg	Tyr	Asn	Trp	Arg	Glu	Asn	Leu	Asp	Arg	Ala	Пlе	
			180					185					190			
gcc	c t g	a t g	aag	c t g	a a g	a a g	$c\ c\ t$	g t t	gcc	t $t$ $c$	a g t	gac	t a c	a t t	cac	6 2 4
Ala	Leu	Met	Lys	L e u	Lys	Lys	Pro	V a l	Ala	Phe	Ser	Asp	Туr	Ile	His	
		195					200					2 0 5				
$c\ c\ t$	g t g	t g t	$\mathfrak{c}$ t g	$C \; C \; C$	gac	agg	gag	a c g	gca	gcc	a g c	t t g	$\mathfrak{c}$ t $\mathfrak{c}$	cag	${\tt g} \ {\tt c} \ {\tt t}$	672
Pro	V a l	Сус	L e u	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser	L e u	Leu	Gln	Ala	
	2 1 0					2 1 5					2 2 0					
						a c a						aag				7 2 0
	Туr	Lys	G 1 y	Arg		Thr	G 1 y	Trp	Gly		L e u	Lys	Glu	Thr		
2 2 5					2 3 0					2 3 5					2 4 0	
						ggg										7 6 8
Thr	Ala	Asn	V a l		Lуs	Gly	Gln	Pro		Val	Leu	Gln	V a l		Asn	
				2 4 5					250					2 5 5		

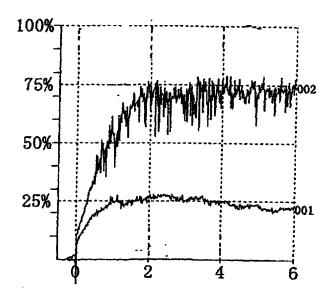
ctg ccc att								8 1 6
Leu Pro Ile atc act gac	260		265			2 7 0	lle Arg	864
Ile Thr Asp								0 0 4
		gaa ggt Glu Gly	gac gct		ccc ttt			9 1 2
290 agc ccc ttt		2 9 5			3 0 0			960
Ser Pro Phe 305								3 0 0
gaa ggc tgt Glu Gly Cys	Asp Arg	Asp Gly		Gly Phe		His	Val Phe	1008
cgc ctg aag	325 aag tgg		aag gtc	330 att gat	cag ttt		335 gag tag	1 0 5 6
Arg Leu Lys	Lys Trp 340	Ile Gln	Lys Val 345	lle Asp	Gln Phe	Gly ( 350	Glu	
<210> 42 <211> 351 <212> PRT								
	s a p i e n s							
< 4 0 0 > 4 2								
Met Ala His	Val Arg 5	Gly Leu	Gln Leu	Pro Gly	Cys Leu		Leu Ala 15	
	5 Ser Leu		Ser Gln	10 His Val	Phe Leu	Ala I	1 5	
1	5 Ser Leu 20	Val His	Ser Gln 25	10 His Val	Phe Leu	Ala I	15 Pro Gln	
l Ala Leu Cys Gln Ala Arg	Ser Leu 20 Ser Leu	Val His Leu Gln	Ser Gln 25 Arg Val 40	10 His Val Arg Arg	Phe Leu Thr Ala 45	Alala30	15 Pro Gln Ser Glu	
l Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr	10 His Val Arg Arg Phe Gly Lys Ser	Phe Leu Thr Ala 45 Ser Gly 60	Alala 30 Thr S	15 Pro Gln Ser Glu Ala Asp	
l Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50 Cys Gly Leu	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe 70	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr	10 His Val  Arg Arg  Phe Gly  Lys Ser 75	Phe Leu Thr Ala 45 Ser Gly 60 Leu Glu	Ala I 30 Thr S Glu A Asp I	15 Pro Gln Ser Glu Ala Asp Lys Thr 80	
l Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50 Cys Gly Leu 65	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro Leu Leu 85 Glu Ile	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe 70 Glu Ser	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr Glu Lys Tyr lle Ser Pro	10 His Val  Arg Arg  Phe Gly  Lys Ser 75  Asp Gly 90	Phe Leu Thr Ala 45 Ser Gly 60 Leu Glu Arg Ile Val Met	Ala I 30 Thr S Glu A Asp I Val G	15 Pro Gln Ser Glu Ala Asp Lys Thr 80 Glu Gly 95	
l Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50 Cys Gly Leu 65 Glu Arg Glu	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro Leu Leu 85 Glu Ile	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe 70 Glu Ser Gly Met	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr Glu Lys Tyr lle Ser Pro 105 Cys Gly	10 His Val  Arg Arg  Phe Gly  Lys Ser 75  Asp Gly 90  Trp Gln	Phe Leu Thr Ala 45 Ser Gly 60 Leu Glu Arg Ile Val Met	Ala 130 Thr 5 Glu 4 Asp 1 Val 6 Leu 1110	15 Pro Gln Ser Glu Ala Asp Lys Thr 80 Glu Gly 95 Phe Arg	
l Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50 Cys Gly Leu 65 Glu Arg Glu Ser Asp Ala Lys Ser Pro 115 Trp Val Leu	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro Leu Leu 85 Glu Ile 100 Gln Glu Thr Ala	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe 70 Glu Ser Gly Met Leu Leu	Ser G1n 25 Arg Val 40 Arg Thr G1u Lys Tyr 11e Ser Pro 105 Cys G1y 120 Cys Leu	10 His Val  Arg Arg  Phe Gly  Lys Ser 75  Asp Gly 90  Trp Gln  Ala Ser	Phe Leu Thr Ala 45 Ser Gly 60 Leu Glu Arg Ile Val Met Leu Ile 125	Alala 30 Thr S Glu A Asp I Val G Leu I 110 Ser A	15 Pro Gln Ser Glu Ala Asp Lys Thr 80 Glu Gly 95 Phe Arg	
l Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50 Cys Gly Leu 65 Glu Arg Glu Ser Asp Ala Lys Ser Pro 115 Trp Val Leu	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro Leu Leu 85 Glu Ile 100 Gln Glu Thr Ala	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe 70 Glu Ser Gly Met Leu Leu Ala His 135 Asp Leu	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr Glu Lys Tyr Ile Ser Pro 105 Cys Gly 120 Cys Leu	10 His Val  Arg Arg  Phe Gly  Lys Ser 75  Asp Gly 90 Trp Gln  Ala Ser  Leu Tyr	Phe Leu Thr Ala 45 Ser Gly 60 Leu Glu Arg Ile Val Met Leu Ile 125 Pro Pro	Ala 130 Thr 3 Glu 4 Asp 1 Val 6 Leu 1110 Ser 4	15 Pro Gln Ser Glu Ala Asp Lys Thr 80 Glu Gly 95 Phe Arg Asp Lys	
1       Ala Leu Cys         Gln Ala Arg       35         Tyr Gln Thr       50         Cys Gly Leu       65         Glu Arg Glu         Ser Asp Ala         Lys Ser Pro         115         Trp Val Leu         130         Asn Phe Thr	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro Leu Leu 85 Glu lle 100 Gln Glu Thr Ala Glu Asn	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe 70 Glu Ser Gly Met Leu Leu Ala His 135 Asp Leu 150 Asn Ile	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr Glu Lys Tyr Ile Ser Pro 105 Cys Gly 120 Cys Leu Leu Val	10 His Val  Arg Arg  Phe Gly  Lys Ser 75  Asp Gly 90 Trp Gln  Ala Ser  Leu Tyr  Arg lle 155 Ile Ser	Phe Leu Thr Ala 45 Ser Gly 60 Leu Glu Arg Ile Val Met Leu Ile 125 Pro Pro 140 Gly Lys	Alala 130 Thr S Glu 4 Asp 1 Val 6 Leu 1110 Ser 4 His S Glu 1	15 Pro Gln Ser Glu Ala Asp Lys Thr 80 Glu Gly 95 Phe Arg Asp Arg Asp Lys Ser Arg 160	
l Ala Leu Cys Gln Ala Arg 35 Tyr Gln Thr 50 Cys Gly Leu 65 Glu Arg Glu Ser Asp Ala Lys Ser Pro 115 Trp Val Leu 130 Asn Phe Thr	Ser Leu 20 Ser Leu Phe Phe Arg Pro Leu Leu 85 Glu Ile 100 Gln Glu Thr Ala Glu Asn Glu Arg Pro Arg	Val His Leu Gln Asn Pro 55 Leu Phe 70 Glu Ser Gly Met Leu Leu Ala His 135 Asp Leu 150 Asn Ile	Ser Gln 25 Arg Val 40 Arg Thr Glu Lys Tyr lle Ser Pro 105 Cys Gly 120 Cys Leu Leu Val Glu Lys Trp Arg	His Val  Arg Arg  Phe Gly  Lys Ser 75  Asp Gly 90  Trp Gln  Ala Ser  Leu Tyr  Arg lle 155  Ile Ser 170	Phe Leu Thr Ala 45 Ser Gly 60 Leu Glu Arg Ile Val Met Leu Ile 125 Pro Pro 140 Gly Lys Met Leu Leu Asp	Ala I 30 Thr S Glu A Asp I Val G Leu I 110 Ser A His S Glu I	15 Pro Gln Ser Glu Ala Asp Lys Thr 80 Glu Gly 95 Phe Arg Asp Lys Ser Arg 160 Lys Ile	

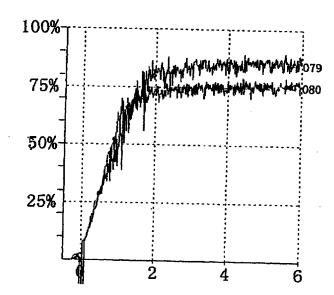
		195					2 0 0					205			
Pro	V a 1	Cys	Leu	Pro	Asp	Arg	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Leu	Gln	Ala
	2 1 0					2 1 5					2 2 0				
Gly	Tyr	Lys	Gly	Arg	V a l	Thr	Gly	Trp	Gly	Asn	Leu	Lys	Glu	Thr	Trp
2 2 5					2 3 0					2 3 5					2 4 0
Thr	Ala	Asn	V a l	Gly	Lys	Gly	Gln	P r 0	Ser	Val	Leu	Gln	Val	V a l	Asn
				2 4 5					250					2 5 5	
Leu	Pro	Пlе	V a l	Glu	Arg	Pro	V a l	Cys	Lys	Asp	Ser	Thr	Arg	Пlе	Arg
			260					265					270		
I 1 e	Thr	A s p	Asn	Met	P h e	Сус	Ala	G 1 y	Tyr	Lys	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys
		2 7 5					280					285			
Arg	Gly	Asp	Ala	Cys	Glu	Gly	Asp	Ala	Gly	Gly	P r 0	P h e	Val	Met	Lys
	290					295					3 0 0				
Ser	Pro	P h e	Asn	Asn	Arg	Trp	Туr	Gln	Met	Gly	Пlе	Val	Ser	Trp	Gly
3 0 5					3 1 0					3 1 5					3 2 0
Glu	Gly	Сус	Asp	Arg	A s p	Gly	Lys	Туr	Gly	Phe	Туr	Thr	His	V a l	P h e
				3 2 5					3 3 0					3 3 5	
Arg	Leu	Lys	Lys	Trp	Пlе	Gln	Lys	V a l	Пe	Asp	Gln	P h e	Gly	Glu	
			3 4 0					3 4 5					3 5 0		

【書類名】図面【図1】

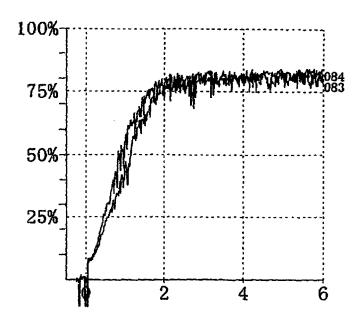


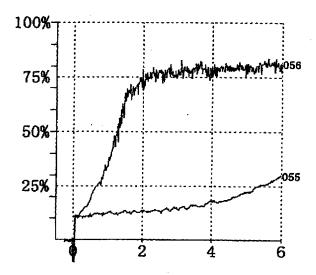
## 【図2】



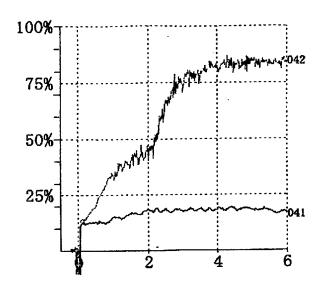


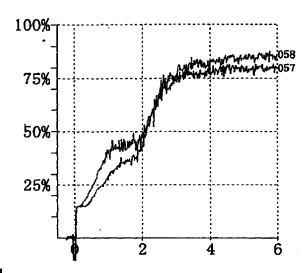
## 【図4】



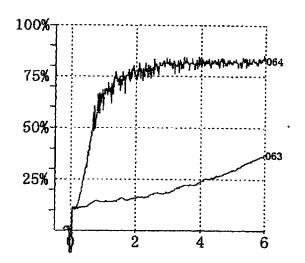


## 【図6】

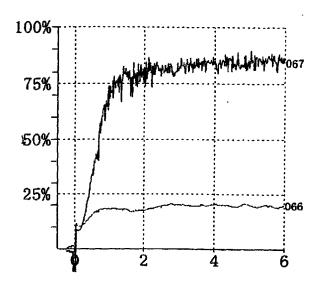


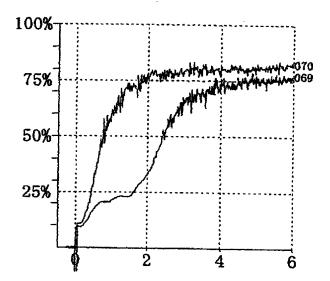


【図8】

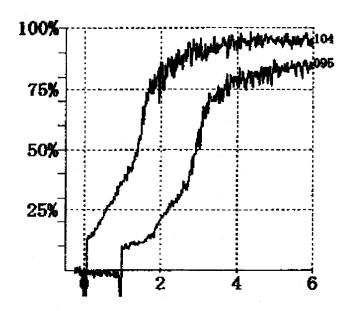


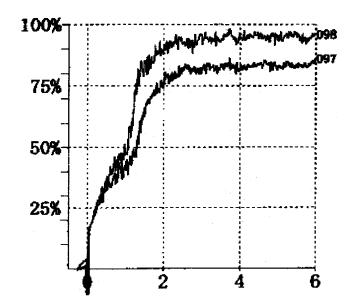
【図9】



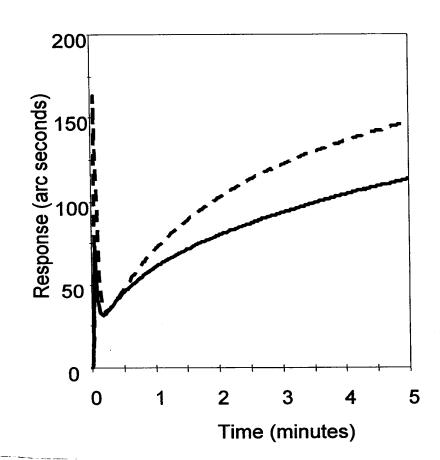


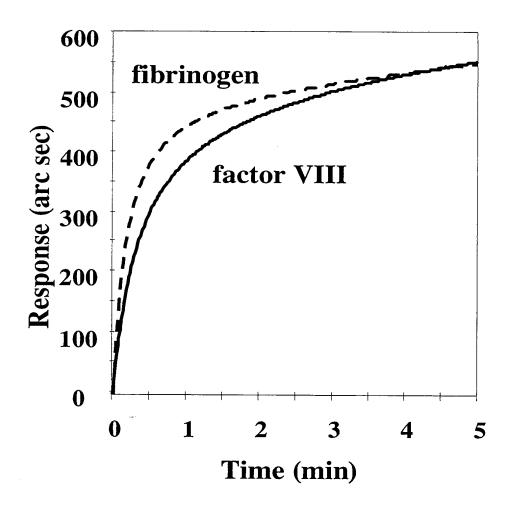
# 【図11】

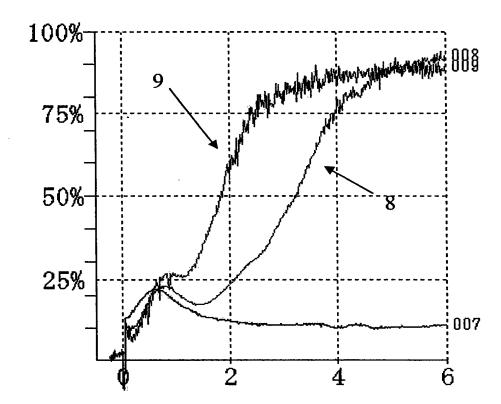


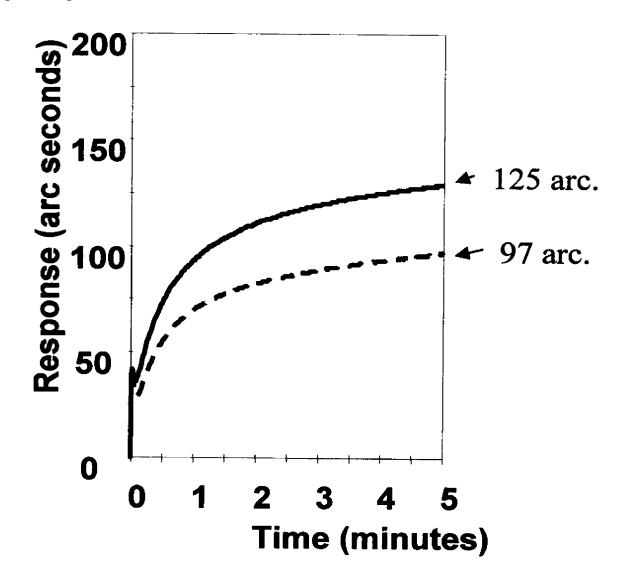


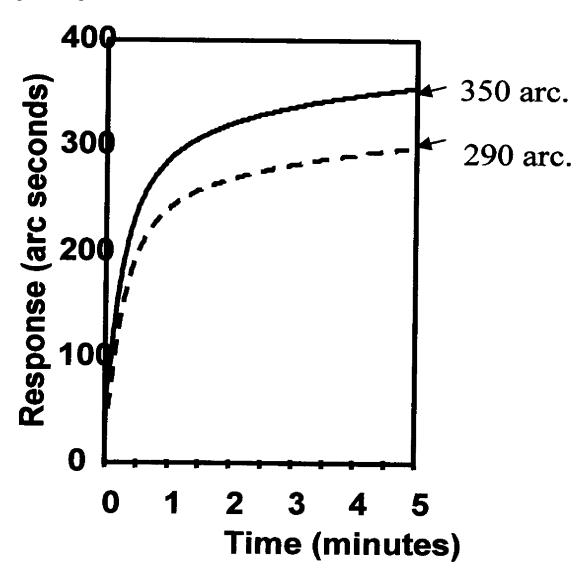
【図13】

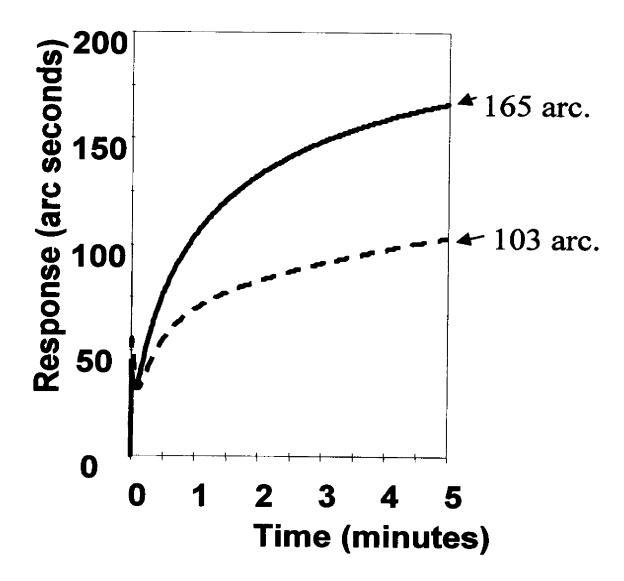


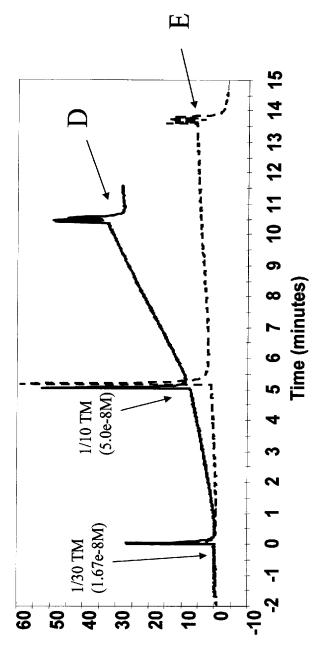




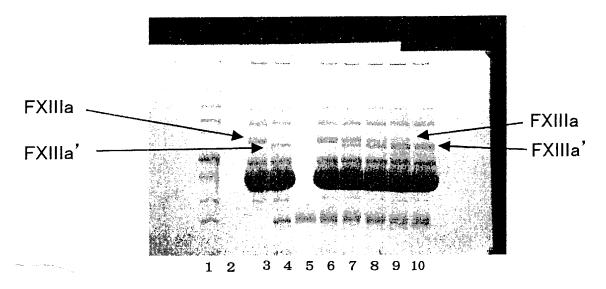








Response (arc seconds)



【書類名】要約書

【要約】

【課題】 抗血栓治療薬又は抗炎症治療薬として好適なトロンビン誘導体を提供する。

【解決手段】 トロンビンにアミノ酸置換を導入し、アミノ酸置換トロンビン誘導体の中から基質分解活性が低下し、かつ基質結合能を保持したトロンビン誘導体を選択する。 具体的にはB鎖203グリシン及びB鎖205セリン及びB鎖43ヒスチジン及び99アスパラギン酸が置換されたトロンビン誘導体及びそのカルボキシル基修飾体などを選択する。

【選択図】 図1

【書類名】 手続補正書 【整理番号】 P-C41191HI 【提出日】 平成16年11月30日 【あて先】 特許庁長官殿 【事件の表示】 【出願番号】 特願2004-315631 【補正をする者】 【識別番号】 0 0 0 0 0 2 0 7 1 チッソ株式会社 【氏名又は名称】 【補正をする者】 【識別番号】 0 0 0 2 2 4 1 0 1 【氏名又は名称】 藤森工業株式会社 【代理人】 【識別番号】 100100549 【弁理士】 【氏名又は名称】 嘉之 川口 【手続補正】 【補正対象書類名】 特許願 【補正対象項目名】 代理権を証明する書面 【補正方法】 追加

【補正の内容】

【提出物件の目録】

【物件名】 委任状 1

## 

### 委任 状

平成 /6 年 /0月22 日

私は、

識別番号 100100549 弁理士 川 口 嘉 之 氏 識別番号 100090516 弁理士 松 倉 秀 実 氏 識別番号 100089244 弁理士 遠 山 勉 氏 を以て、代理人として下記事項を委任します。

#### 言己



1. 特願 2004-80950、特願 2004-170346、特願 2004-217834

に関する手続

- 1. 上記出願に関する出願の変更、出願の放棄及び出願の取下げ
- 1. 上記出願に関する拒絶査定に対する審判の請求
- 1. 上記出願に係る特許権、実用新案権及び意匠権に基づく権利及びこれらに関 する権利に関する手続並びにこれらの権利の放棄
- 1. 上記出願に係る特許に対する特許異議の申立て又は実用新案登録に対する登録異議の申立てに関する手続
- 1. 上記出願に係る特許、特許権の存続期間の延長登録及び意匠登録に対する無効審判の請求に関する手続
- 1. 上記出願に係る特許権に関する訂正審判の請求
- 1. 上記各項の手続に関する請求の取下げ、申請の取下げ又は申立ての取下げ
- 1. 上記各項に関し行政不服審査法に基づく諸手続をなすこと
- 1. 上記各項の手続を処理するため、復代理人を選任及び解任すること

住所 (居所)

氏名 (名称)

東京都中央区日本橋馬喰町IT目4番16号 藤森工業株式会社 代表取締役社長 藤 森 明 彦

(代 表 者)



### 出願人履歴

0000000207119900823

大阪府大阪市北区中之島3丁目6番32号 チッソ株式会社 0000224101 19900830 新規登録 597072349

東京都中央区日本橋馬喰町1丁目4番16号藤森工業株式会社